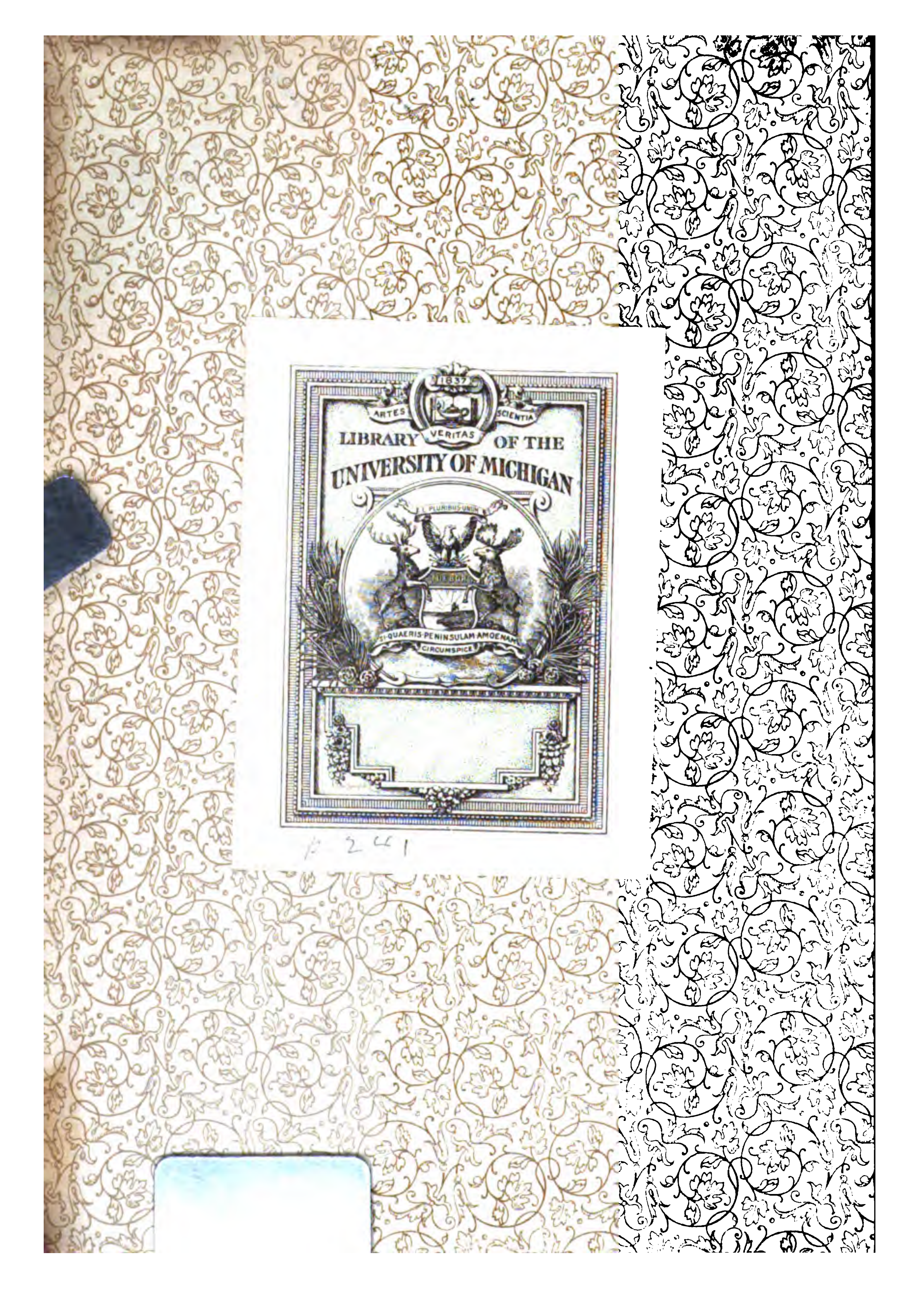
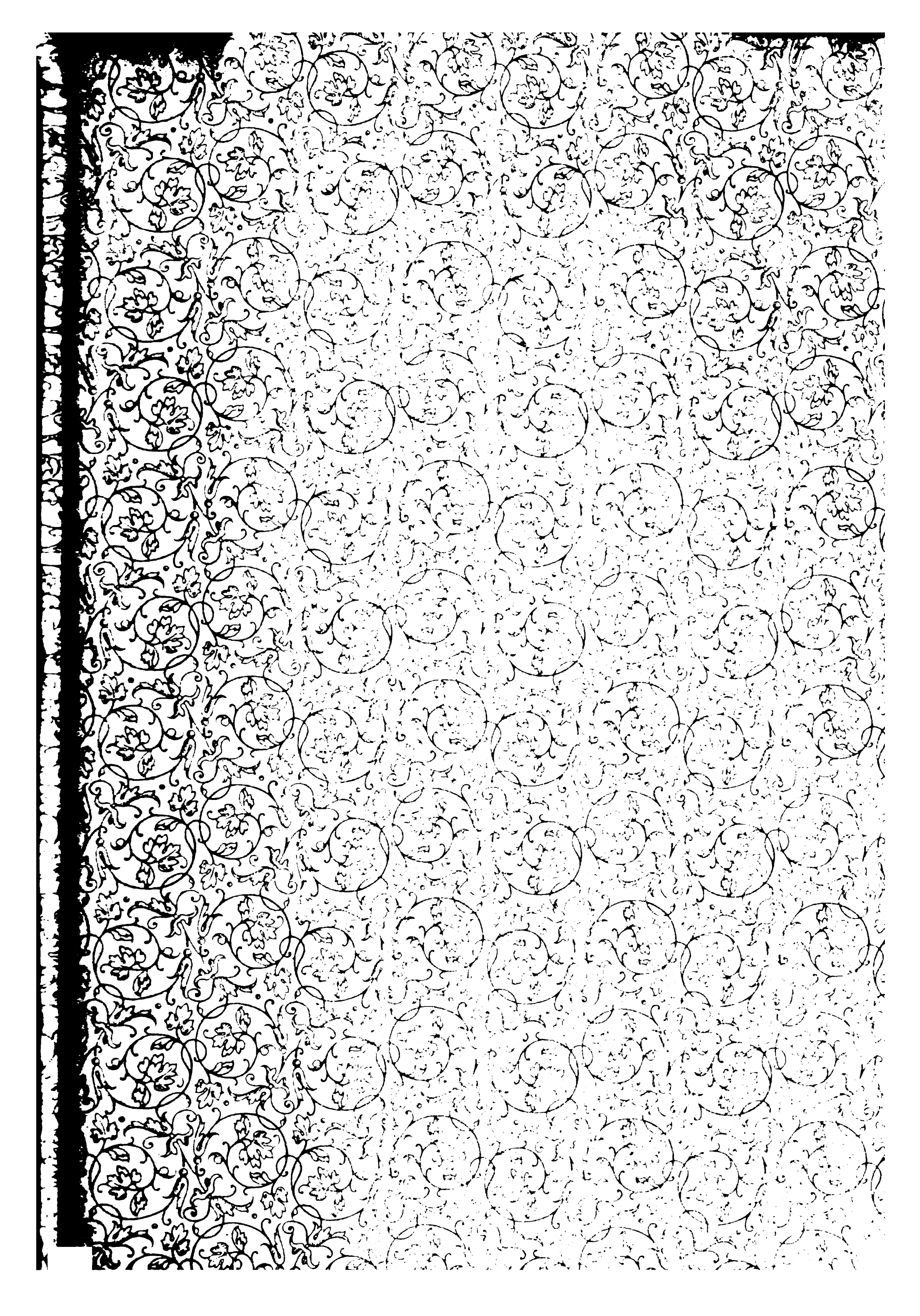



1837
ARTES
VERITAS
SCIENTIA
LIBRARY OF THE
UNIVERSITY OF MICHIGAN
E PLURIBUS UNUM
SI QUAERIS PENINSULAM AMOENAM
CIRCUMSPICE



DIE FERMENTE

UND

IHRE WIRKUNGEN

VON

CARL OPPENHEIMER
DR. PHIL. ET MED.
ASSISTENT AM PHYSIOLOGISCHEN INSTITUT ZU ERLANGEN



LEIPZIG
VERLAG VON F. C. W. VOGEL
1900

Vorwort.

Das hier vorliegende Buch verfolgt zwei verschiedene Interessen. Zum ersten habe ich den Versuch gemacht, eine einheitliche Auffassung des Fermentbegriffes auf energetischer Basis zu gewinnen und von diesem Standpunkt aus die „Lehre von den Fermenten“ als ein theoretisch abgeschlossenes Gebiet zu betrachten. Dabei habe ich die Enzyme und die geformten Fermente als zusammenhängendes Ganzes behandelt.

Zum zweiten habe ich mich bemüht, das vorliegende Material an Arbeiten auf diesem Gebiete möglichst vollständig zu verwerthen.

Dabei entstand nun besonders bei den fermentativen Vorgängen, die mit lebenden Zellen in engem Connex stehen, eine erhebliche Schwierigkeit. Bei diesen Processen ist es nämlich kaum möglich, diejenigen Arbeiten in annähernder Vollständigkeit zu erwähnen, die für das vorliegende Thema, die Fermentationen, von Bedeutung sind, weil sich mit ihnen aus naheliegenden Gründen eine grosse Anzahl von Untersuchungen vermengt, die entweder vom rein biologischen oder vom technischen Standpunkt aus abgefasst sind. Ich habe also bei der Besprechung der „geformten Fermente“ nur eine Auswahl aus den Arbeiten treffen können, um diejenigen herauszusuchen, die wirklich die Fermentation als solche berühren. Dagegen habe ich den Versuch gemacht, das Material über die ungeformten Fermente in möglichster Vollständigkeit zu bringen. Nur eine Einschränkung habe ich dabei absichtlich gemacht. Bei Fragen, welche heute definitiv erledigt sind, habe ich die ältere Litteratur nur in soweit berücksichtigt, als sie historisches Interesse verdient; mich sonst aber begnügt, diejenigen Arbeiten anzuführen, die eben die definitive Entscheidung herbeigeführt haben.

Leider konnte ich diese Beschränkung nicht oft anwenden, da die Mehrzahl der hier gestreiften Fragen noch ihrer definitiven Lösung harrt. Und in diesen Fällen bin ich stets bestrebt gewesen, den gegenwärtigen Stand des Problems auf Grund aller mir zugänglichen Arbeiten zu präcisiren. Dass trotzdem meine Litteraturangaben lückenhaft sein werden, muss ich wohl befürchten, da die vorliegende Litteratur sehr umfangreich und auf die verschiedensten Zweige der Biologie zerstreut ist. Ich wäre deshalb für jeden Nachweis einer übersehenen Arbeit sehr dankbar.

Um das Buch nicht zu einem Handbuch anschwellen zu lassen, habe ich alles Methodologische, auch Zahlen, Tabellen etc. nach Möglichkeit eingeschränkt; ich stehe auch principiell auf dem Standpunkt, dass man bei experimentellen Arbeiten unbedingt auf die Originalien zurückgehen muss, und halte deshalb die genauere Schilderung von Methoden für überflüssig, wenn sie nicht aus eigener Erfahrung so präcis dargestellt werden können, dass sie der Originalarbeit an Klarheit mindestens gleichkommen.

Die Litteratur ist fast durchweg nach den Originalarbeiten citirt, soweit sie mir in der Erlanger Bibliothek und den verschiedenen Berliner Bibliotheken zugänglich waren. Sonst ist meist die Stelle angegeben, wo ich sie citirt gefunden habe. Bei einigen ist mir das Original nicht zu Händen gekommen und der Citationsort entfallen; ich habe sie mit einem * bezeichnet.

Erlangen, Mai 1900.

Carl Oppenheimer.

Inhaltsverzeichniss.

Allgemeiner Teil.

Seite

Einleitung 1

Erstes Capitel.

Historische Entwicklung des Fermentbegriffes. Aeltere Ansichten bis auf Stahl. Lavoisier. Gay-Lussac. Liebig's Zersetzungstheorie. Pasteur. Nägeli's molecular-physikalische Theorie. Geformte und ungeformte Fermente. Hansen will den Begriff „Ferment" abschaffen. Green's vitale Anschauung.

Zweites Capitel.

Definition des Fermentbegriffes 15

Exothermale und endothermale Processe. Fermente und Zellthätigkeit.

Umgrenzung des zu behandelnden Stoffes.

Drittes Capitel.

Chemische Natur der Fermente 26

Eiweisskörper oder nicht? Nucleoproteïde. Protoplasmasplitter? Gautier's Hypothese. Fermente nicht Stoffe, sondern Eigenschaften von Stoffen? Eigenschaften der Fermente. Dialysirbarkeit.

Viertes Capitel.

Beeinflussung der Fermente durch äussere Factoren 38

Physikalische Agentien (Wärme, Licht). Säuren und Basen. Neutralsalze. Protoplasmagifte. Antagonismus. Wirkung der Fermente aufeinander. Einfluss der Spaltproducte. Sonstige Agentien (Gase, Blutserum). Verhalten der Fermente gegen Wasserstoffsuperoxyd. Guajacreaction.

Fünftes Capitel.

Wirkungsweise der Fermente 48

Hydrolytische und oxydative Spaltungen. Eintheilung der Fermentwirkungen. „Katalytische" Wirkung. Hüfner's Theorie der Katalyse. Unterschiede zwischen einfacher Säurespaltung und Fermentwirkung. Fermentwirkungen unvollständig. Inactivirung und Reactivirung. Einfluss der Menge des Fermentes. Geschwindigkeit der Reaction. Specifische Wirkung der Fermente. Bedeutung der sterischen Configuration. Fermente und Toxine. „Antifermente."

Sechstes Capitel.

Physiologische Wirksamkeit der Fermente 67

Temperatursteigerung. Toxische Wirkungen. „Immunität."

Siebentes Capitel. Seite

Secretion der Fermente 70
Geformte und ungeformte Fermente und ihre Zwischenstufen. Zymase. Secernirte Fermente und ihre Secretion bei Thieren und Pflanzen. Zymogene.

Achtes Capitel.

Wichtigkeit der Fermente für den Lebensprocess 76
Synthese und Spaltung. Reservestoffe durch Fermente nutzbar gemacht. Fermentbildung durch Reize bedingt. Verbreitung in dem Reiche der Lebewesen. Fermente in Embryonen. Schicksale der Fermente im Organismus.

Specieller Theil.

A. Die hydrolytischen Fermente.

Neuntes Capitel.

I. Die proteolytischen Fermente 89

1) **Das Pepsin.** Historisches. Darstellung. Entstehungsart. Pepsinogen. Verbreitung im Thierreich. Vorkommen ausserhalb des Magens. Eigenschaften. Wirkung des Pepsins.
   a) Methoden zur Bestimmung der Wirksamkeit.
   b) Beeinflussung durch äussere Factoren. Pepsinsalzsäure.
   Spaltproducte der Pepsinverdauung. Albumosen, Peptone etc. Wirkung auf Albuminoïde.

Zehntes Capitel.

2) **Trypsin** 111
Historisches. Darstellung. Eigenschaften. Verbreitung. Zymogen. Spaltproducte. Leucin, Tyrosin, Asparaginsäure, Glutaminsäure. Lysin, Arginin, Histidin. Tryptophan. Wirkung auf Albuminoïde. Selbstverdauung der Organe.

Elftes Capitel.

3) **Bacteriolytische und hämolytische Fermente** 125

Zwölftes Capitel.

4) **Proteolytische Pflanzenfermente** 133
   a) in den Samen.
   b) das Papaïn.
   c) Fleischfressende Pflanzen.
   d) Fermente der Kryptogamen.

Dreizehntes Capitel.

II. Coagulirende Fermente 142

1) **Labferment.** Historisches. Caseïn und Paracaseïn. Labzymogen. Wirksamkeit. Bedeutung der Kalksalze. Pflanzliches Labferment.
2) **Pectase.**
3) **Fibrinferment.**

Vierzehntes Capitel.

Seite

III. Die sacharificirenden Fermente 154

1) **Die Diastasen. (Amylasen).**

a) **Malzdiastase.** Historisches. Darstellung und Eigenschaften. Bestimmung der Wirksamkeit. Beeinflussung durch Säuren, Salze etc. Einfluss des Lichtes. Abbau der Stärke. Dextrine. Maltose. Isomaltose. Theorien des Abbaus. Zweienzymtheorie.

b) **Andere pflanzliche Diastasen.** In keimenden Samen, in Blättern etc.; in Kryptogamen, Hefe etc.

Fünfzehntes Capitel.

c) **Thierische Diastasen** 179

α) Die Speicheldiastase. Historisches. Darstellung. Wirkung. Unterschiede von Malzdiastase (?). Einfluss äusserer Factoren. Wirkung auf verschiedene Stärkearten. Vorkommen.

β) Die Pancreasdiastase. Vorkommen etc. Zymogen.

γ) Die Diastase des Dünndarms.

δ) Die Leberdiastase und die Glycogenspaltung.

ε) Diastase im Blut, Harn etc.

Diastatische Fermente und Diabetes.

Sechzehntes Capitel.

2) **Diastaseähnliche Fermente der Polysacharide** 192

a) Cellulase oder Cytase. Celluloseenzym in keimenden Samen und Kryptogamen. Cytasen bei Thieren.

b) Inulinase.

c) Carubinase.

d) Seminase.

e) Pectinase.

Siebzehntes Capitel.

Die Enzyme der Disacharide.

3) **Maltase** 199

a) Die Maltase der Hefen. Vorkommen. Darstellung.

b) Die Maltase anderer Kryptogamen.

c) Thierische Maltasen.

4) **Invertase.**

a) der Hefen,

b) anderer Kryptogamen,

c) der Phanerogamen,

d) Thierische Invertase.

5) **Trehalase, Melicitase, Melibiase.**

6) **Lactase.**

Achtzehntes Capitel.

IV. Glucosidspaltende Fermente 212

Allgemeines.

1) **Emulsin.**

a) der Phanerogamen, besonders der Mandeln. Eigenschaften. Wirksamkeit. Secretion.

b) der Kryptogamen.

2) **Gaultherase.**

3) **Myrosin.**

4) **Rhamnase.**

5) **Erythrozym** u. a.

Neunzehntes Capitel. Seite

V. Andere hydrolytische Fermente 227

1) **Die Lipasen.**
   a) Thierische Lipasen (Pancreas, Blut).
   b) Pflanzliche Lipasen.
2) **Fermentation des Harnstoffs (Urase).**
3) **Zerfall von Calciumformiat.**

Zwanzigstes Capitel.

VI. Die Milchsäuregährung 236

Historisches. Chemismus. Bedingungen der Gährung. Biologie der Milchsäuregährung.

B. Die oxydativen Fermente.

Einundzwanzigstes Capitel.

I. Die Alkoholgährung 243

Historisches. Buchner's Zymase. Chemismus der Reaction. Die Nebenproducte und ihre Bedeutung für den Fermentvorgang. Die Wärmetönung der alkoholischen Gährung. Giebt es ein alkoholbildendes Ferment ausserhalb der Hefen?

Zweiundzwanzigstes Capitel.

Die Biologie der Alkoholgährung 261

Der Streit zwischen der chemischen und der vitalen Theorie. Die Organismen der Alkoholgährung. Die „reinen Hefen". Hefen und Schimmelpilze. Die Bedingungen der Hefegährung.
Die Bedeutung des Sauerstoffes und Pasteur's Theorie der Gährung.

Dreiundzwanzigstes Capitel.

II. Die Oxydasen 285

1) **Thierische Oxydasen.** Allgemeines. Die Salicylase. Nucleoproteïde. Die Oxydase der Purinderivate. Guajac bläuende Oxydasen. Indirecte Oxydasen.
   Das „harnstoffbildende" Ferment.
   Das glycolytische Ferment.
2) **Die Oxydasen der Pflanzen.** Allgemeines. Laccase. Tyrosinase. Oenoxydase etc. Mangansalze. Diastase und Oxydase.

Vierundzwanzigstes Capitel.

III. Oxydative Gährungen 305

1) **Die Essiggährung.**
2) **Ähnliche oxydative Gährungen.** Oxalsäuregährung. Citronensäuregährung. Sorbosegährung. Oxygluconsäuregährung.

Systematisches Litteraturverzeichniss 310
Sachregister 334
Namenregister 340
Druckfehler-Verzeichniss 349
Verzeichniss der häufigsten Abkürzungen 350

Einleitung.

Erstes Capitel.

Die Beschäftigung mit den „Fermenten und ihren Wirkungen“ hat seit der Zeit, wo sie zuerst bekannt wurden, das gemeinsame Arbeitsgebiet für fast alle Zweige der Biologie gebildet. Spielen doch derartige Processe überall dort ihre gewichtige Rolle, wo überhaupt Leben sich regt. Alle Probleme der thierischen und pflanzlichen Energieumsetzungen, d. h. des Lebens, sind in irgend welcher Weise verknüpft mit der Lehre von den „Fermenten“. Beide Erscheinungen, der Lebensprocess und die Fermentwirkungen, beeinflussen sich gegenseitig in mannigfaltiger, vielfach noch dunkler Weise. Ueber die Bedeutung aber und den Umfang der gegenseitigen Einwirkungen beider Phänomene ist eine Uebereinstimmung noch leider nicht im mindesten erzielt. Während vielfach die Fermentprocesse geradezu als ein Theil der Lebensvorgänge aufgefasst werden, leugnen andere jeden inneren Zusammenhang und wollen die Fermentprocesse nur als eigenartige Modificationen von Vorgängen gelten lassen, die auch in der anorganischen Welt vor sich gehen. Und ebenso wie über diese Beziehung zum Leben, so ist auch über die Natur der fermentativen Processe selbst noch kein sicheres, einheitlich gebilligtes Fundament vorhanden. Ja nicht einmal der Begriff „Ferment“ ist festgelegt.

Es ist aber unmöglich, die biologisch so wichtige Frage nach der Beziehung der Fermente zum Leben mit Erfolg anzugreifen, ehe man nicht über den Begriff des „Fermentes“ selbst und der Fermentationen zu einer einheitlichen Auffassung gelangt ist. Nun hat aber dieser Begriff im Laufe der Jahrhunderte zahlreiche Wandlungen durchgemacht; sein Umfang ist häufig erweitert, eingeschränkt und wiederum erweitert worden. Trotz aller dieser Bemühungen ist er auch heute noch erst zu einer gewissen Klarheit durchgekämpft worden: aber eine wirkliche Uebereinstimmung darüber, was ein fermentativer Process ist, und welche Erscheinungen man darunter zusammenzufassen hat, ist auch heute noch nicht erzielt.

Indessen ist vielleicht gerade jetzt die Zeit gekommen, wo die Grundlagen für diese erstrebenswerthe einheitliche Auffassung gegeben sind. Gerade die letzten experimentellen Befunde erscheinen geeignet, trennende Schranken, die ihr bisher im Wege standen, nieder zu reissen, und Raum zu schaffen für einen neu zu gewinnenden höheren Standpunkt, von dem aus die bisherigen Resultate inductiv concentrirt werden könnten zu einem geschlossenen Lehrgebäude „von den Fermenten und ihren Wirkungen".

Wenn ich behaupten wollte, dass dieser höhere Standpunkt in meiner einheitlichen Auffassung des Fermentbegriffes, wie ich sie in den folgenden Blättern vertreten möchte, bereits gewonnen sei, so wäre dies eine Vermessenheit; mir ist wohl bewusst, dass diese Auffassung auch ihre schwachen Seiten und Lücken hat; immerhin hoffe ich doch, dass dieser Versuch einer zusammenfassenden Betrachtung wenigstens eine Grundlage darstellt, auf der man weiter bauen kann.

Wenn wir nun diesen Versuch machen wollen, die Lehre von den Fermenten und ihren Wirkungen unter einen einheitlichen Gesichtspunkt zu bringen, so ist es unumgänglich nöthig, die historische Entwicklung dieses und der mit ihm in Beziehung gebrachten Begriffe wenigstens in ihren Grundzügen zu betrachten, um unter kritischer Beleuchtung seiner zahlreichen Umwandlungen zu einem Resultate zu gelangen.

Der Begriff der „Fermentatio" reicht bis in das Alterthum zurück.

Die Kenntniss der praktischen Bedeutung gewisser Gährungserscheinungen, besonders der alkoholischen Gährung des Zuckers, war fast sämmtlichen Völkern zu allen Zeiten bekannt. In Folge dessen ist der Name „Fermentatio", den wir in dieser ersten Bedeutung ungefähr mit unserem deutschen Wort „Gährung" im populären Sinne gleichsetzen dürfen, schon in früher Zeit Allgemeingut nicht nur der Gelehrten gewesen. Eine irgendwie wissenschaftliche Fragestellung auf diesem Gebiete finden wir indessen im Alterthum nirgends.

Bald auch begann nunmehr die Confundirung der verschiedenartigsten Vorgänge unter dem Begriff der Fermentation, die sich dann das ganze Mittelalter hindurch fortsetzt und auch heute noch nicht beseitigt ist.

Einmal gewöhnte man sich, den Begriff der „Fermentatio" in seinem etymologischen Sinn [1]) auf alle Reactionen, die mit ähnlichen sichtbaren Gasentwicklungen einhergingen, ohne Weiteres anzu-

---

1) Es hängt wahrscheinlich mit fervere „wallen, sieden" zusammen (vgl. A. Mayer, Gährungschemie, Anm. auf S. 7).

wenden; andererseits brauchte man Putrefactio „Fäulniss" und Fermentatio als völlige Synonyma.

Man ging dann in der Verallgemeinerung noch weiter und strebte schliesslich dahin, alle chemischen Vorgänge in der Universalrubrik der „Fermentwirkungen" unterzubringen, so dass dieser Begriff eine ähnliche Krücke darstellte, wie späterhin die „Katalyse". Dann verstand man ausserdem noch unter Ferment eine geheimnissvolle Lebenskraft, den „lapis philosophorum" und was der Confusion aller möglichen Dinge mehr war.

Im Wesentlichen indess blieb der Name Fermentation für die Processe, die mit Gasentwicklung einhergehen, so dass Hales und van Helmont[1]) selbst Oxydationen mit Salpetersäure und das Aufbrausen von Carbonaten in Säuren als „Fermentationen" beschrieben.

Diese letzte Consequenz der rein äusserlichen Betrachtung der Fermentwirkungen wurde freilich bald widerlegt, indem zuerst Sylvius de la Boë auf den durchgreifenden Unterschied zwischen Kohlensäureentwicklung aus Carbonaten und Gährung hinwies.

Durch Lemery wurde dann bekannt, dass der Alkohol erst nach dem Gährprocess vorhanden sei, im Gegensatz zu der früheren Angabe von Basilius Valentinus, der die Gährung nur als einen Reinigungsprocess des schon vorhandenen Alkohols aufgefasst hatte.

Becher wies dann gleichfalls nach, dass der Alkohol erst bei der Gährung entsteht, und zwar nur aus süssen Stoffen; er zieht Analogien zwischen Gährung und Verbrennung und unterscheidet zwischen Gährung und Fäulniss, und zwischen der echten („geistigen") Gährung und der „sauren" Gährung (Milchsäurebildung u. s. w.). Stahl, der Begründer der Phlogistontheorie beschäftigte sich ebenfalls mit dem Wesen der Gährung.

Er schrieb dem „Ferment" eine innere Bewegung zu, die es durch Ansteckung auch auf bis dahin ruhende Körper übertragen und dadurch auch diese zum Zerfall bringen könnte. Aehnlich äusserte sich Willis. Der Standpunkt Stahl's wurde allgemein acceptirt. Man nahm also ein, um modern zu sprechen, kraftübertragendes Etwas, das „Ferment" an, das ruhende Atomcomplexe in Erschütterung versetzt und zersplittert. Irgend welche chemische Vorstellungen konnten sich bei dem damaligen Stand der Kenntnisse daran natürlich nicht schliessen. Man unterschied nur grob zwischen geistiger, saurer und fauliger Gährung.

1) Ich folge bei der Besprechung der älteren Periode im Wesentlichen dem monumentalen Werke von Kopp, Geschichte der Chemie IV. S. 285 ff.; s. a. Schützenberger, Die Gährungserscheinungen, Internat. wiss. Bibl. 1875. S. 10 ff.

So standen die Dinge, als Lavoisier auftrat. Seine epochemachenden Arbeiten über die Bedeutung des Sauerstoffes für das Leben und seine Schöpfung der quantitativen Chemie mussten auch die Lehre von den Gährungen von Grund aus umwälzen.

Lavoisier sprach es klar aus, dass die weinige Gährung darin besteht, dass der Zucker eine chemische Spaltung in Alkohol und Kohlensäure erleidet. Er sagt ferner, dass dieser Process theoretisch umkehrbar sei, und bemerkt, dass auch der Alkohol noch Sauerstoff enthielte.

Für das schaffensfreudige, experimentirfrohe Geschlecht, das auf den von Lavoisier gelegten Fundamenten das Gebäude der modernen Chemie errichtete, war für so dunkle, naturphilosophische Gebilde, wie der „Fermentprocess" sich darstellte, kein Interesse vorhanden. Lavoisier selbst nahm die Existenz eines solchen „Fermentes" einfach zur Kenntniss und beschäftigte sich rein mit dem Chemismus der Reaction, dem äusserlich erkennbaren Resultat, ohne sich um die Ursache irgend welche Sorge zu machen. Und gerade so machten es seine nächsten Nachfolger, speciell Gay-Lussac. Bei allem Eifer in der Erforschung des chemischen Vorganges bei der Alkoholgährung war das Thema: „Ferment" eigentlich aus der Discussion verschwunden.

Natürlich ist das cum grano salis aufzufassen. Wir werden bei der Geschichte der alkoholischen Gährung noch sehen, dass für die Erklärung der Hefewirkung manche Combinationen gemacht worden sind, aber eine eigentliche Theorie der Vorgänge versuchte man garnicht. Als eine solche ist auch nicht die Ansicht von Gay-Lussac[1]) aufzufassen, dass der Sauerstoff allein die auslösende Macht der alkoholischen Zuckerspaltung sei, da er auch in der Hauptsache nur annahm, dass das Ferment durch Sauerstoff entsteht. Damit erklärte er also nicht die erst dann einsetzende Fermentwirkung.

Und wenn später Berzelius und Mitscherlich[2]) die Gährung auf eine „katalytische" oder „Contact"wirkung zurückführen wollten, so haben sie nur einen neuen Namen für eine unbekannte Grösse gegeben.

Auch vereinzelte andere Versuche, die Gährung durch chemische oder electrische Theorien erklären zu wollen (Meissner Colin etc.),[3]) haben keine Bedeutung.

Inzwischen wurde der Kreis der Phänomene wesentlich erweitert

1) Gay-Lussac, Ann. d. Chim. **76**. 247 (1810).

2) Mitscherlich, Liebig's Ann. XVI.; s. a. Berl. Acad. Sitzb. **1841**. 379. **1842**. 147.

3) s. b. Balling, Gährungschemie. 1845. I. S. 155; cit. n. Mayer l. c.

durch das Auffinden von anderen organischen Stoffen, die auch derartige „Contactwirkungen“ auslösten.

Robiquet fand in dem Samen der bitteren Mandeln einen „albuminoïden“ Stoff, der die Eigenthümlichkeit besass, aus dem ebendarin vorkommenden Amygdalin Blausäure und Zucker abzuspalten. Dies wirksame Princip wurde dann von Liebig und Wöhler genauer untersucht und Emulsin (s. d.) genannt. Bald darauf fand man andere ähnliche Agentien: Durch Eberle und Schwann wurde das Pepsin, durch Corvisart das Trypsin entdeckt; Payen und Persoz fanden die stärkelösende Diastase etc.

Auch diese Stoffe bezeichnete man als „Fermente“ und hielt sie für Eiweisssubstanzen, die katalytische Wirkungen ausüben könnten. Mit dem eifrigen Studium dieser Erscheinungen trat nun auch die theoretische Seite dieser Fragen wieder mehr in den Vordergrund, und es war der Boden geschaffen für eine „Theorie der Fermente“, die diese verschiedenartigen Processe von einem einheitlichen Gesichtspunkt aus erläutern sollte.

So gelangen wir denn zu der ersten wirklichen Theorie der Fermentwirkungen, die eine einheitliche Auffassung ermöglicht, der Zersetzungstheorie von Liebig,[1]) die zwar in Einzelheiten häufig von ihm modificirt wurde, doch stets den Kern enthält, dass alle Fermentationen aufzufassen seien als Fortleitung einer Erschütterung der Molecüle, die zum Zerfall führt, und die hervorgerufen wird durch eine chemische Zersetzung des fermentirenden Materials. So wird die Fäulniss weitergeführt durch die sich zersetzenden Eiweisskörper, die alkoholische Gährung durch die Zersetzung der Hefe, die Eiweisszersetzung durch das Pepsin durch den Zerfall dieser albuminoïden Substanz etc.

Wir finden also in der Liebig'schen Anschauung zum ersten Mal seit Stahl eine energetische Auffassung der Vorgänge, und deshalb ist sie von eminenter Bedeutung, wenn sie sich auch in der Art der Erklärung: der Herbeiführung der molecularen Gleichgewichtsstörung durch einen chemischen Zersetzungsvorgang als durchaus unhaltbar erwies. Eine chemische Zersetzung der Fermente lässt sich ohne Weiteres ablehnen: die Hefe sowohl, als auch die albuminoïden Substanzen werden bei den von ihnen veranlassten Umsetzungen im Grossen und Ganzen nicht chemisch verändert. Weiterhin trugen besonders die Arbeiten von Dumas[2]) zum Sturze der Liebig'schen Theorie bei,

1) Liebig, s. z. B. seine Ann. Bd. 60. 1 und die „Chemischen Briefe“ 1865. 21. Brief; ferner Ann. Chem. Pharm. 153. 1. (1870).

2) Dumas, Ann. d. chim. et phys. (5) III. 59. (1874).

der nachwies, dass die Fermentation nur bei unmittelbarster Berührung des Fermentes mit seinem Material eintritt, dass ferner andere Bewegungen speciell Schallschwingungen auf die Zersetzung ohne Einfluss sind.

Die Liebig'sche Theorie sollte für alle Fermentprocesse gelten, die sie nur als Theilerscheinung der allgemeinen durch Zersetzung fortgeleiteten katalytischen Processe hinstellte, also sowohl für die alkoholische Gährung und Milchsäuregährung des Zuckers, wie für die Wirkungen der „albuminoïden" Substanzen.

Von den zahlreichen Beispielen, die Liebig als Analogie herbeizog, sei nur eins erwähnt, das seine Anschauungsweise deutlich kennzeichnet: Platin als solches ist gegen Salpetersäure unempfindlich. Bringt man dagegen eine innige Legirung von Platin und Silber mit Salpetersäure zusammen, so löst sich das Silber und überträgt seine Zersetzung auf das Platin, das nun ebenfalls sich in Salpetersäure löst.

In dieser Art wollte nun Liebig auch die Zersetzung der Fermente als Ursache der Zersetzung ihrer Substrate betrachtet wissen.

Als kurz darauf durch die classischen Untersuchungen Pasteur's der Beweis geführt wurde, dass die alkoholische Gährung und mehrere andere Fermentprocesse im engsten Connex mit der Lebensthätigkeit von niederen Organismen stehen, da gewöhnte man sich, diese Processe als die Thätigkeit „geformter" oder „organisirter" Fermente von denen zu trennen, die ohne Contact mit lebenden Zellen wirken und die man als „ungeformte Fermente", später mit Kühne als Enzyme bezeichnete, wie Pepsin, Diastase, Emulsin etc.

Was die geformten Fermente anbetrifft, so wurde Liebig's Theorie durch die Auffindung der gewaltigen Rolle, welche Mikroorganismen bei der alkoholischen Gährung, der Fäulniss etc. spielen, um so wirksamer in den Hintergrund gedrängt, als Liebig sich nicht dazu entschliessen konnte, diese Bedeutung der lebenden Zelle anzuerkennen. Dadurch wurde auch die Bedeutung seiner Theorie für die ungeformten Fermente discreditirt. Wir werden die Entwicklung dieser Frage bei der Geschichte der alkoholischen Gährung genauer zu schildern haben; für die Ausbildung des Begriffes „Ferment" im Allgemeinen musste natürlich die rein biologische Auffassung Pasteur's, dass die Alkoholgährung ein „Leben der Hefe ohne Sauerstoff" sei, ein gewaltiges Hinderniss darstellen.

Damit war eigentlich eine völlige, principielle Trennung der „geformten" Fermente von den „Enzymen" entschieden, und nur dem Gesetz der Trägheit danken wir es, dass man sich nicht auch schon damals zu einer formellen Trennung und dem Aufgeben eines ein-

heitlichen Fermentbegriffes entschloss, wozu gelegentliche Ansätze oft genug gemacht worden sind.

Die Pasteur'sche Anschauung, dass die Gährungserscheinungen einfach dem Stoffwechsel der Mikroorganismen zuzuweisen seien, hat bis vor kurzem bei der Mehrzahl der Fachgenossen Geltung besessen. Allerdings war der Gedanke der Einheitlichkeit zwischen Enzymen und geformten Fermenten nicht von Allen aufgegeben worden. Besonders Berthelot, Traube und Hoppe-Seyler haben stets nachdrücklich den Standpunkt verfochten, dass auch in den lebenden Zellen wirkliche Enzyme wirksam seien, ganz vergleichbar den ausserhalb der Zelle wirkenden und nur graduell von diesen verschieden, doch gelang es ihnen nicht, solche Enzyme zu isoliren, und dieser Umstand wurde ihnen von den Gegnern stets wieder vorgehalten.

Wir werden später sehen, dass auch hier die Wahrheit in der Mitte beider Anschauungen liegt. Pasteur behält insofern Recht, als es thatsächlich unter den früher mit dem Namen „Fermentprocesse" bezeichneten Vorgängen viele giebt, die nur vom rein biologischen Standpunkt, als dem Stoffwechsel der Mikroben angehörend, aufgefasst werden können, während andere, von denen Pasteur dasselbe annahm, dem entgegen sicher enzymatisch sind.

Nun sind aber diese Anschauungen zwar für das Verhältniss der beiden Arten von Fermenten wichtig, geben aber leider keine Theorie der Fermentwirkungen; Traube und Hoppe-Seyler nahmen eben nur engere Beziehungen beider Gruppen an, ohne aber einen Versuch der Erklärung der Wirkung zu machen. Pasteur's rein biologische Auffassung selbst als richtig angenommen, so wurde doch seine Theorie: die Hefe entziehe nur bei Abwesenheit von atmosphärischem Sauerstoff dem Zucker einen Theil seines Sauerstoffs, der dann durch ihre „Athmung" als Kohlensäure wieder erscheint, die Gährung sei eine „vie sans air", bald als falsch widerlegt, da Hefe auch bei Anwesenheit von Sauerstoff gährt.

So war denn die Liebig'sche Theorie der Fermentationen durch fortgeleitete Zersetzung zwar als falsch erwiesen, aber keine neue an ihre Stelle gesetzt. Dies wurde erst durch Hüfner[1]) wieder versucht und dann besonders von Naegeli[2]) in seiner molecularphysikalischen Theorie.

Naegeli that den bedeutungsvollen Schritt, an Stelle der Liebigschen chemischen Zersetzung die moleculare Schwingung zu

1) Hüfner, J. pr. Ch. N. F. X. 148. 385 (1874).

2) Naegeli, Theorie der Gährung. München 1879.

setzen. Er nahm an, dass die schwingenden Bewegungen der Molecüle oder der Atome im Molecül durch die entsprechenden Schwingungen einer der ersten zugefügten Substanz so verstärkt werden können, dass durch den blossen Contact mit dieser Substanz ein Zerfall der Molecüle der ersten Substanz eintritt, ohne dass die zersetzende („katalytische") Substanz selbst davon beeinträchtigt würde. Es genügt eben in labilen Molecülen die leichteste Erschütterung, um sie zusammenbrechen zu lassen. Man kann dieses labile Gleichgewicht vergleichen mit der Spannung in schnell abgekühlten Gläsern, die bei der leisesten Berührung an einer bestimmten Stelle in tausend Splitter zerstieben. Auch hier ist die Ursache keineswegs jener leichte Stoss; dieser bewirkt nur die Erschütterung eines kleinen Complexes von Glaskryställchen, aber indem diese sich trennen, erschüttern sie ihre Nachbarn so mächtig, dass auch sie in Zerfall gerathen und so wird die kleine Erschütterung das „auslösende Moment" für eine gewaltige Energieumsetzung. So wirkt auch das Ferment auf den zu zersetzenden Körper ein, indem es neue Gleichgewichtsbedingungen schafft, die zu chemischen Umsetzungen führen, bei denen das Ferment selbst unbetheiligt bleibt. Nun erklärt diese Annahme zwar nicht, warum gerade die Fermente diese Entladung bewirken, wir können absolut nicht beweisen, dass in ihnen besonders lebhafte Schwingungen vorhanden sind, aber wir finden in Naegeli's Ansicht doch jedenfalls eine energetische Auffassung der Fermentwirkung gegenüber der biologischen Pasteur's.

Naegeli hat im Wesentlichen diese Theorie für die geformten Fermente durchgeführt, in der Art, dass eben das lebende Protoplasma besonders energische Atomschwingungen auslösen könnte. Doch hätte er mit grosser Leichtigkeit diese plastische Anschauungsweise auf alle Fermente übertragen können und so eine einheitliche Vorstellungsform der Fermentwirkungen geben können.

Diesen Schritt that er leider nicht. Er wollte zwar auch die Enzymwirkung analog erklären, hielt sie aber für völlig verschieden von der „vitalen" Gährung. Er glaubte sogar, dass die Enzyme endothermale Processe auslösen sollen, wozu ihn die früheren falschen Zahlen für die Verbrennungswärme des Rohrzuckers verleiteten. Kurzum, Naegeli hielt trotz seiner rein energetischen Theorie streng an einem tiefgreifenden Wesensunterschied zwischen den ungeformten und geformten Fermenten fest. Für Naegeli beruht dieser Gegensatz darauf, dass die Enzyme gesondert von der Zelle wirken, die Gährungserscheinungen nur im unmittelbaren Contact mit der lebenden Zelle vor sich gehen. Er documentirt sich ferner darin, dass die Enzyme die Eigenschaft haben, unlösliche und für den Stoff-

wechsel untaugliche Stoffe in resorbirbare „Ernährungsstoffe" umzuwandeln, während im Gegensatz dazu die geformten Fermente die physiologische Brauchbarkeit dieser Stoffe herabsetzen. So wichtig dieser Unterschied für die Fragen der Biologie sein mag, so ist er doch für die Betrachtung der Fermentvorgänge vom rein theoretischen Standpunkte aus völlig belanglos. Wir könnten uns ebensogut Enzyme vorstellen, die ebenfalls gute Nährstoffe in schlechtere umwandeln, und geformte Fermente, die z. B. die Cellulose in resorbirbare Zucker verwandeln.[1]) Im Übrigen sieht Naegeli in diesem von ihm betonten Unterschiede wohl nur den teleologisch gefassten Ausdruck wirklicher Wesensunterschiede. Der tiefer liegende Urgrund der Trennung ist die unlösbare Verknüpfung der einen Vorgänge mit der lebenden Zelle; während die Enzyme von dieser unabhängig ihre Wirkungen ausüben können, wenn er auch im Gegensatz zu Pasteur die Wirkung der geformten Fermente nicht geradezu mit dem Stoffwechsel identificirt.

Es war also bei dem damaligen Stande der Kenntnisse thatsächlich sehr schwer, einer einheitlichen Auffassung des Fermentbegriffes Raum zu geben.

Auch der Gedanke von Loew,[2]) dass den Enzymen noch „ein Rest" der im lebenden Protoplasma wirksamen Kräfte anhaften könnte, ist viel zu vage, um näher discutirt werden zu können. Ähnlich stellt sich Medwedew[3]) die Wirkung der thierischen Oxydasen als Reste von vitalen Kräften vor. Auch Andere, so A. Mayer[4]) vertreten ähnliche Ansichten. Die radicale Ansicht von Gautier, der den Fermenten direct vitale Eigenschaften vindicirt, wird uns noch beschäftigen.

So war es denn in gewissem Sinne berechtigt, dass Hansen[5]) den gordischen Knoten einfach dadurch zu lösen vorschlug, dass man den schwachen Faden, der eigentlich nur der historischen Entwicklung zu Liebe noch zwischen ungeformten und geformten Fermenten geknüpft schien, mit dem Schwerte einer principiellen Scheidung zu durchtrennen sich entschliessen soll. Er hält es für das Beste, den Begriff „Ferment" überhaupt fallen zu lassen; und zu unterscheiden zwischen der Wirkung der Enzyme, die der lebenden Zelle nicht bedürfen und dem Bereiche der Gährungserscheinungen, die als Unterabtheilung dem

---

1) Wie dies wahrscheinlich viele Mikroben thun. Im Uebrigen sind die tryptischen Spaltproducte der Eiweisskörper, Leucin, Arginin etc. doch wirklich nicht als Nährstoffe anzusehen.

2) Loew, Pflüg. A. 27. S. 210.

3) Medwedew, Pflüg. A. 65. 249. (1897).

4) A. Mayer, Enzymologie. Heidelberg 1882.

5) Hansen, Arbeiten aus dem botan. Institut. Würzburg. III.

Stoffwechsel der Organismen zu subsumiren sind. Man verzichtet dann also auf eine energetische Betrachtungsweise der Fermentprocesse und schiebt als Ausgangspunkt der Auffassung die biologische Frage in den Vordergrund. Wenn es nicht gelänge, den Unterschied zwischen „lebenden“ und „toten“ Fermenten zu überbrücken und Raum zu schaffen für eine einheitliche energetische Auffassung, so wäre diese Anschauung in der That berechtigt und für die Klarstellung der obwaltenden Probleme von grosser Fruchtbarkeit.

Dass aber diese Kluft überbrückbar ist und es wohl gelingen kann, den Fermentbegriff als solchen beizubehalten und einheitlich zu umgrenzen, hoffe ich in den folgenden Blättern nachweisen zu können.

Dass der Unterschied zwischen den fermentativen Wirkungen der Enzyme und der lebenden Zelle kein so fundamentaler sein möge, darauf deuten schon verschiedene Thatsachen hin, die in dieser Beziehung zu wenig beachtet sind. Es lässt sich nämlich eine so wirklich haarscharfe Grenze zwischen den von der Zelle an die umgebenden Medien abgegebenen Enzymen und den anderen, ganz fest an ihr haftenden Fermenten garnicht ziehen. Während die gesunde, lebende Zelle nur gewisse Enzyme einfach secernirt, hält sie unter normalen Bedingungen eine Reihe anderer Fermente fest. Tötet man aber die Zelle, oder schwächt man selbst nur ihre Vitalität, so geht ein Theil dieser Fermente in die umgebenden Medien über und wirkt nunmehr, losgelöst von der Zelle, als echtes Enzym (z. B. Hefeninvertase). Man kann nicht leicht entscheiden, ob man diese Fermente den Enzymen oder den geformten Fermenten zuschreiben soll, da sie ja unter normalen Bedingungen nur innerhalb der Zelle im Protoplasmaverband wirken, einmal losgelöst aber doch unabhängige Eigenkräfte entfalten. Und noch viel mehr erwächst diese Schwierigkeit, wenn wir Enzyme finden, die auf keine Weise aus der Zelle herauszubekommen sind, aber doch unabhängig von der Vitalität der Zelle wirken, da sie auch ihre Thätigkeit entfalten, wenn man die Lebensenergie der Zelle durch Protoplasmagifte ausschaltet, wie dies von dem invertirenden Ferment der Monilia candida gilt.

Einen Hinweis darauf, dass die Fermentwirkungen doch nicht direct mit dem Lebensprocess zu identificiren seien, lieferte auch die interessante Beobachtung von Fiechter,[1]) dass Blausäure zwar den Lebensprocess und die Entwicklung der Hefe völlig aufhebt, dass aber bei Gegenwart beträchtlicher Hefenmengen die Fermentwirkung nicht sofort inhibirt wird.

---

1) Fiechter, Wirkg. d. Blausäure. Diss. Basel. 1875.

Andererseits giebt de Bary[1]) an, dass man Bacillus amylobacter kurze Zeit mit Glucoselösung kochen kann (einige Minuten), ohne dass er die Fähigkeit der Fortpflanzung verliert, wohl aber seine gährende Kraft. Dasselbe kann man erreichen, wenn man ihn durch viele Generationen auf solchen Nährböden cultivirt, in denen er keine Gährthätigkeit entfalten kann. Aehnlich kann man manchen Mucor-Arten ihre Gährfähigkeit entziehen, ohne ihre vitale Kraft zu schwächen.

In Würdigung dieser eigenartigen Thatsachen macht Green[2]) einen neuen Versuch, die Einheit des Fermentbegriffes zu bewahren, indem er zwar, was unbedingt nöthig, den Wesensunterschied zwischen Enzymen und geformten Fermenten fallen lässt, aber nunmehr alle Fermentwirkungen als Lebensprocesse anzusehen geneigt ist. Dieser Versuch scheint mir nicht geeignet, das Problem zu lösen.

Zunächst ist mit dieser rein biologischen Anschauung für das Verständniss der Fermentationen gar nichts gewonnen. Während die radicale Abtrennung der Enzyme im Sinne Hansen's wenigstens für dieses beschränktere Gebiet Bahn schafft für eine rein energetische Betrachtungsweise unter Beiseitelassung vitaler Kräfte, wirft im Gegensatz dazu Green's Anschauung das ganze Problem zurück in den Bannkreis der „Lebenskraft“.[3]) Aber abgesehen davon, dass diese scheinbar einheitliche Auffassung uns nicht weiter führt, uns keine Begriffsbestimmung des „Fermentes“ möglich macht, da sie eben die Fermentwirkungen untertauchen lässt in die räthselvollen Tiefen des Lebensprocesses, leidet sie auch an anderen, schwerwiegenden Mängeln. Es ist doch recht gewaltsam, die Wirkung der secernirten Enzyme, weil sie einmal aus der lebenden Zelle entstanden sind, auch dann immer noch als Erscheinungen des „Lebensprocesses“ anzusprechen, wenn sie, räumlich und zeitlich völlig von ihrer Ursprungszelle getrennt, ihre Thätigkeit ausüben. Man könnte dann zu der ungeheuerlichen Vorstellung gelangen, die Strychninvergiftung als eine Art vitalen Vorgangs der Brechnuss zu betrachten, wenn man die Pepsinwirkung als einen vitalen Vorgang der Thiere hinstellt. Mit dem „Leben“ hängen diese Enzyme nur dadurch zusammen, dass sie Producte lebender Zellen sind, und

1) de Bary, Vorlesg. üb. Bacterien. Leipzig 1885. S. 65.

2) Green, Analls of botany VII.

3) Ich verstehe hier unter Lebenskraft nicht jene vielbefehdete specifische, allem Unorganischen entwachsene Energie der Lebensvorgänge, sondern fasse den Begriff rein empirisch: als Summe der Energien, die das „Leben“ ausmachen, und deren Zusammenspiel bisher nicht erklärt ist, wenn es auch vielleicht rein mechanisch-causal erklärt werden kann. Zur Frage nach der Berechtigung des „Vitalismus“ nehme ich hier keine Stellung.

dass sie eine grosse biologische Bedeutung für das Leben besitzen.

Der andere wunde Punkt der Green'schen Annahme ist die Unmöglichkeit, dann überhaupt die Fermentwirkungen abzugrenzen. Wir finden, um bei seiner Anschauung zu bleiben, Fermente als Lebenserscheinungen der höheren Organismen (die Enzyme) und nach der Definition völlig beherrschend den Stoffwechsel niederer Organismen (Gährungserscheinungen). Warum nun bei den Pilzen die Grenze ziehen? Wenn der Stoffwechsel der Pilze Fermentwirkung ist, warum ist es der der Moose nicht mehr? Warum nicht der aller höheren Lebewesen?

Wir würden also bei einer consequenten Durchführung dieses rein biologischen Princips zu einer Identificirung des Fermentbegriffes mit dem des Stoffwechsels gelangen — und hätten einem uralten Räthsel einen neuen Namen gegeben.[1])

Dieser Einwand wendet sich nicht nur speciell gegen Green's Ansicht, sondern überhaupt gegen die Auffassung von dem Wirken der geformten Fermente, wie sie von Pasteur ausging, als Stoffwechsel der niederen Organismen. Nichts berechtigt uns, hier willkürlich eine Grenze zu ziehen zwischen den niederen Pilzen, deren Stoffwechsel aus Fermentwirkungen bestehen soll und den anderen Lebewesen, den höheren Pilzen, den Chorophyllpflanzen und den Thieren. Dies hat übrigens einer der eifrigsten Verfechter des biologischen Standpunkts, Schützenberger[2]) implicite zugegeben, der die Absonderung der Gährungserscheinungen für eine Folge der bis dahin mangelhaften Kenntnisse erklärt.

Die biologische Betrachtungsweise erweist sich also für eine einheitliche Auffassung des Fermentbegriffes als unfruchtbar, und wenn es nicht gelingt, eine energetische Grundanschauung zu finden, die die Kluft zwischen den Enzymen und den geformten Fermenten über-

---

1) Von einem anderen Standpunkt geht Stohmann (Z. f. Biol. 31. 385) aus, wenn er annimmt, dass die Nährstoffe zuerst an das lebende Protoplasma gebunden werden und dann aus diesem „katalytisch" als Eiweiss, Fett etc. abgespalten werden. Damit würden also auch Fermentwirkungen im weitesten Sinne auch im Stoffwechsel der Zelle selbst anzunehmen sein. Dieser Gedanke ist in sehr geistvoller Weise von Max Kassowitz in seiner Allg. Biologie (Wien 1899) zu einem umfassenden Lehrgebäude ausgebeutet worden (s. auch mein Referat darüber in der Naturwiss. Wochensch. Mai 1899). Für die Betrachtung der Fermentprocesse an sich lässt sich dieser Gedanke indess nicht verwerten, da die obwaltenden Vorgänge im Protoplasma sich kritischer Beurtheilung entziehen.

2) Schützenberger, Die Gährungserscheinungen. Internat. wiss. Bibl. 1875. S. 1.

spannt, so müssen wir Hansen ganz Recht geben: Wir müssen unterscheiden zwischen den leblosen Enzymen und den Lebenserscheinungen als solchen; und dann ist es auch berechtigt, in diesem Rahmen die Lebenserscheinungen der niederen Pilze gesondert zu betrachten von denen der übrigen Organismen. Das sind dann rein biologische Fragen, die die Lehre von den Fermenten nicht mehr berühren.

Aber diese Nothwendigkeit liegt nicht vor. Haben schon die oben erwähnten Thatsachen die Grenzlinie zwischen ungeformten und geformten Fermenten zu einer schwankenden gemacht, so ist durch die epochemachenden Versuche von E. Buchner die Unterscheidung in ihrer theoretischen Bedeutung hinfällig geworden. Dadurch, dass es Buchner gelang, ein bislang absolut untrennbar mit dem Lebensprocess verknüpftes Ferment, das den Traubenzucker vergährende Ferment der Hefezellen, als Enzym, als Zymase vom Lebensprocess zu trennen, ist die Perspective eröffnet, dass überhaupt der Unterschied zwischen Enzymen und geformten Fermenten aus der theoretischen Betrachtungsweise verschwinden wird.

Dadurch wird die unerlässliche Vorbedingung geschaffen für eine einheitliche Auffassung des Fermentbegriffes und diese kann nur energetischer Natur sein.

Wir müssen uns fragen: welcher Art müssen die Umsetzungen sein, die wir als Fermentwirkungen bezeichnen; und wo ist die Grenze zu ziehen zwischen ihnen und anderen Processen?

Nun wissen wir, dass die sog. Enzyme die Fähigkeit haben, aufgespeicherte chemische Spannkräfte auszulösen; dasselbe ist von der alkoholischen Gährung längst bekannt.[1]) Wir haben also weiter nichts zu thun, als per analogiam alle Fermentprocesse als derartige „Auslösungserscheinungen“ aufzufassen, gleichgiltig, ob diese auslösende Energie mehr oder minder fest mit dem Protoplasma einer Zelle verbunden ist; dagegen werden wir jeden Process von den Fermentwirkungen sondern, bei dem andere Vorgänge, als Energieentladungen von statten gehen, besonders solche, bei denen Spannkräfte gebildet werden.

Die Beziehungen der lebenden Zelle zu den Fermenten werden wir darauf reduciren, dass alle Fermente lebenden Zellen entstammen zum Unterschiede von ähnlichen energieauslösenden Factoren, die der anorganischen Welt angehören; und dass die Fermente ein biologisch höchst wichtiges Werkzeug der Organismen darstellen, dessen sie sich

---

1) s. d. auch Stohmann, Z. für Biol. 31. 385.

zu ihrer Ernährung bedienen. Dagegen ist auf die energetische Frage, auf die Wärmetönung des Processes, der Hauptwerth zu legen.

Ein chemischer Vorgang, bei dem die ganze Masse des reagirenden Stoffes Energie aufnimmt, also z. B. die Reduction von Kohlenstoff zu Acetylen, kann ausschliesslich unter Zufuhr lebendiger Kraft von aussen her erfolgen; solche Vorgänge erfolgen nur bei hohen Temperaturen oder durch Vermittelung des electrischen Stromes. Soll ein endothermaler Process bei gewöhnlicher Temperatur überhaupt ohne Zufuhr von fremder Energie vor sich gehen, so muss ihm ein zahlenmässig vergleichbarer exothermaler Process parallel gehen, der die nöthige chemische Spannkraft liefert, so dass das Gesammtresultat der Wärmetönung gleich oder grösser als + 0 sein muss. Wenn Salpetersäure sich durch Zink zu Hydroxylamin und Ammoniak reducirt und dabei Wärme aufnimmt, so steht diesem endothermalen Process die exothermale Auflösung und Oxydation des Zinks gegenüber, so dass das Gesammtresultat einen Ueberschuss von Energie darstellt.

Wenn es aber endothermale Fermentprocesse gäbe, so fehlen diese beiden nothwendigen Bedingungen. Besondere lebhafte Energiezufuhr ist nicht erforderlich, da die Fermentwirkungen bei niederen Temperaturen vor sich gehen. Und ein reciproker Process findet bei Fermentreactionen niemals statt. Es handelt sich stets um ganz einseitig verlaufende Processe, denen keine thermochemisch entgegengesetzten parallel laufen. Wenn wir also nicht den Fermenten die Fähigkeit zuschreiben wollen, gleichsam wie ein Hohlspiegel freie Energiemassen von irgend woher zu concentriren und zur Vollziehung der endothermalen Fermentationen zu benutzen, so müssen wir einfach entscheiden: Enzymatische Processe können nur exothermal sein. Gegen eine derartige abenteuerliche Vorstellung von Energieconcentrationen durch die minimalen Fermentmengen, die ja bei dem Process selbst in Unthätigkeit zu verharren scheinen, spricht auch die Thatsache, dass durch Sonnenlicht, in dem doch eine solche Sammlung leichter vor sich gehen müsste, Fermentprocesse niemals gefördert, mitunter aber gehemmt werden. Es liegt also gar keine Möglichkeit vor, sich einen endothermalen Process als Fermentprocess vorzustellen, da die Quelle der aufzuwendenden Energie unbekannt ist. Fermentprocesse exothermaler Natur dagegen sind ohne Weiteres vorzustellen, da hier ja die Quelle der freiwerdenden Energie in den zu fermentirenden Molecularcomplexen selbst zu finden ist.

Zweites Capitel.

Feststellung des Begriffes „Ferment".

Wir gelangen aus diesen Erwägungen zu folgender Definition des Begriffes „Ferment":

Ein Ferment ist das materielle Substrat einer eigenartigen Energieform, die von lebenden Zellen erzeugt wird und mehr oder minder fest an ihnen haftet, ohne dass ihre Wirkung an den Lebensprocess als solchen gebunden ist; diese Energie ist im Stande, die Auslösung latenter **(potentieller)** Energie chemischer Stoffe und ihre Verwandlung in kinetische Energie (Wärme, Licht) zu bewirken; in der Weise, dass der chemische Stoff dabei so verändert wird, dass der neu entstehende Stoff oder die Summe der neu entstehenden Stoffe eine geringere potentielle Energie, d. h. eine geringere Verbrennungswärme besitzt, als der ursprüngliche Stoff. Das Ferment selbst bleibt bei diesem Process unverändert. Es wirkt specifisch, d. h. jedes Ferment richtet seine Thätigkeit nur auf Stoffe von ganz bestimmter structureller und stereochemischer Anordnung. Ich will nunmehr versuchen, die einzelnen Sätze dieser Definition ausführlicher zu beleuchten.

Ich habe die Fermente als das „materielle Substrat" einer Energieform bezeichnet, weil wir über die chemische Natur der Fermente noch absolut im Unklaren sind. Während man einerseits geneigt ist, die Fermente als zwar noch nicht in reinem Zustande bekannt, aber nur in Folge des mangelhaften Zustandes unserer Kenntnisse noch nicht wohlcharakterisirbare chemische Verbindungen von bestimmter Constitution aufzufassen, halten andere sie für völlig immaterielle, an wechselnde chemische Körper sich gleichsam anheftende Energiemengen, wie die Electricität in einem Conductor (Arthus).[1] Zwischen diesen beiden Extremen schwanken die Anschauungen durch die verschiedenen Zwischenglieder hindurch.

1) Arthus, La nature des enzymes. Paris 1896 (Thèse).

Früher hielt man die Fermente einfach für Eiweisskörper, oder man schrieb umgekehrt den Eiweisskörpern fermentative Wirksamkeit zu, wie dies besonders von den diastatischen Fermenten (s. d.) behauptet worden ist. Andererseits hat man besonders vom Pepsin und der Invertase (s. d.) feste, sehr wirksame Präparate gewonnen, die keine Eiweissreactionen mehr geben und so dem Gedanken Raum lassen, dass man es hier wirklich mit chemischen Individuen zu thun haben könnte. Indessen ist bis jetzt kein Ferment trotz vieler Untersuchungen auch nur mit hinreichender Wahrscheinlichkeit als einheitlich festgestellt und noch weniger in seiner Constitution aufgeklärt worden. Man muss sich also über diesen Punkt mit aller Reserve ausdrücken. Wir werden diese Frage späterhin ausführlich behandeln.

Von der Art und Weise, wie diese „eigenartige Energieform" ihre Wirksamkeit entfaltet, haben wir nicht die geringste sichere Vorstellung. Wir müssen uns einfach entschliessen, die fermentativen Wirkungen als eine Theilerscheinung der ominösen „katalytischen" Processe aufzufassen, deren Sonderstellung dadurch bedingt ist, dass sie „von der lebenden Zelle erzeugt" werden. Die „katalytische Wirkung" ist nicht viel mehr als ein Verlegenheitsschema, in dem man chemische Vorgänge unterbringt, die bei einer gewissen Gleichartigkeit des Verlaufs nicht ohne Weiteres durch unsere einfachen chemischen Anschauungen erklärbar sind. Manche Erscheinungen, die man früher als „katalytische" ansah, hat man allerdings bei vorschreitender Erkenntniss auf einfachere chemische Gesetze zurückführen können, so dass dieser Hilfsbegriff eine wesentliche Einschränkung seines Geltungsbereiches erfahren hat. Man muss dabei auch nicht vergessen, dass ja schliesslich auch die Lehre von den einfachen chemischen Umwandlungen und der chemischen „Affinität" erkenntnisstheoretisch ein einziges grosses Räthsel ist; dass wir nur viel länger gewohnt sind, mit diesen Begriffen als unentbehrlichen Grundaxiomen zu rechnen, ohne dass wir ihnen anders als metaphysisch beikommen können, wie dies in noch weiterem Sinne von den Begriffen von Materie und Energie überhaupt gilt.[1])

Es wäre also eigentlich ein kleineres Specialräthsel auf das Allgemeinräthsel der chemischen Energie zurückgeführt, wenn es gelänge, die „katalytische" Wirkung rein chemisch zu erklären, wie dies Hüfner in sehr geistvoller Weise versucht hat. Wir werden weiter

---

1) Auf die Gefahr, die darin liegt, unsere wissenschaftlichen Grundaxiome nicht blos als Anschauungsformen, sondern als objective Realitäten in metaphysischem Sinne aufzufassen, hat neuerdings der Berufensten Einer, Boltzmann, in seinem prachtvollen Vortrage auf dem Münchener Naturforschercongress 1899 eindringlich hingewiesen (vgl. Nat. Rdsch. 1899. No. 39 ff.).

unten ausführlicher darauf zurückkommen, und auch zeigen, dass die fermentativen Processe sich ferner doch ganz beträchtlich von den einfach katalytischen Vorgängen unterscheiden.

Indessen können wir, um uns eine gewisse Vorstellung von dem Wirken jener energieentladenden Agentien zu bilden, die Naegeli'sche Ansicht als ein bequemes Bild acceptiren.

Wie wir ja überhaupt geneigt sind, uns die Atome im Molecül nicht als ruhend, sondern als um eine Gleichgewichtslage schwingend zu denken, so dürfen wir auch in den Katalysatoren solche, vielleicht sehr energische Schwingungen annehmen, die durch Fortleitung ihrer Bewegung ein System ruhender Spannkräfte an einer Stelle zum Zerfall bringen; und nun pflanzt sich dieser Zerfall vermöge der bei seinem Eintritt freiwerdenden Wärme spontan weiter fort, ohne dass der Katalysator dadurch in Mitleidenschaft gezogen wird; der Process tritt erst dann in ein Ruhestadium, wenn ein neues, stabileres Gleichgewicht hergestellt ist. Gestützt wird diese Anschauung noch dadurch, dass der Modus der fermentativen Zerfallsvorgänge ähnlich, obzwar nicht analog ist demjenigen, den man durch andere rein chemische Agentien, z. B. verdünnte Säuren erzeugt; wir werden bei der genaueren Besprechung der Wirkungsweise der Fermente näher auf diesen Punkt eingehen.

Eine andere Anschauungsweise, die uns aber auch nicht mehr gewährt, als ein Bild, ist die, dass man die Wirksamkeit der Fermente so aufzufassen hätte, dass sie selbst nicht unverändert bleiben, aber sich stets regeneriren. So soll bei der Hydrolyse das Ferment selbst zunächst Wasser aufnehmen und dann an das zu hydrolysirende Substrat weitergeben, indem es sich selbst ad integrum restituirt, um diesen Process zu wiederholen. Abgesehen davon, dass es sehr schwierig vorzustellen ist, wie das Ferment in wässriger Lösung im Stande sein soll, sein Wasser wieder abzugeben, noch dazu an Stoffe, die sonst unter diesen physikalischen Bedingungen gegen Wasser keine Affinität zeigen (z. B. Eiweisskörper), so ist damit immer noch nichts erklärt, denn die Frage steht auf demselben Fleck: Warum giebt das Fermenthydrat, wenn ich mich so ausdrücken darf, sein Wasser an das Substrat weiter ab? Man sieht, dass die Naegeli'sche Anschauung einfacher und als Bild plastischer ist, als diese etwas verkünstelte Vorstellung.[1]) Eine Erklärung geben sie beide nicht, sondern umschreiben nur immer die „katalytische“ Wirkung. Dazu kommt noch bei einzelnen

1) Ein Versuch, die Wasseraufnahme, die ein Ferment bei der Zerstörung erleiden sollte, experimentell durch Gewichtszunahme zu constatiren, ist fehlgeschlagen (A. Mayer, Enzymologie. Heidelb. 1882. S. 107).

Fermenten die momentan schnelle Wirkung (bei Lab), die einen Anhänger dieser Anschauungsweise (Fick)[1]) dazu bringt, für dieses eine „Einsturztheorie“ anzunehmen, und deshalb das Lab von allen anderen Enzymen loszutrennen. Dasselbe, wie für die hydrolytische, wurde auch für die oxydative Spaltung versucht; das Ferment sollte sich selbst abwechselnd oxydiren, dabei also Sauerstoff aufnehmen und unter Abgabe an das Medium wieder reduciren; dafür gilt ebenfalls das oben Gesagte. Man hat dabei namentlich an eine wichtige Rolle des organisch gebundenen Eisens gedacht.[2])

Werthvoller erscheint mir eine andere Ansicht, die in ihren Grundzügen von Bunsen und Hüfner aufgestellt, besonders von Wurtz bei seinen Arbeiten über das Papaïn vertreten wurde. Danach dürfte man annehmen, dass das Ferment sich zunächst mit dem zu fermentirenden Substrat zu einer lockeren, schnell wieder zerfallenden Verbindung zusammenschliesst und dass beim Zerfall dieser Verbindung ein Zerfall auch des Substrates eintritt. Gestützt wird diese Ansicht besonders durch die Thatsachen, dass die Fermente, besonders Pepsin und Papaïn mit Fibrin thatsächlich eine so feste Verbindung eingehen, dass sie durch einfaches Waschen nicht von einander getrennt werden können. Wir werden die Consequenzen aus diesen Thatsachen erst später ziehen können, müssen aber gleich vorausschicken, dass eine Ansicht, welche eine präliminare Vereinigung von Ferment und Substrat annimmt, zwar eine plastischere Vorstellung von den Bedingungen des Eintritts einer Fermentwirkung gestattet, aber auch nicht geeignet ist, zu einer vollen Theorie der Fermentwirkungen ausgebildet zu werden. Ist also das innere Wesen der „fermentativen“ Processe ein Räthsel, so ist es doch unschwer, ihr Endziel und die äusseren Bedingungen ihres Verlaufes zu erkennen.

Das Wesen der katalytischen und damit der fermentativen Vorgänge beruht in der allmählichen, also zu der explosionsartigen, plötzlichen im Gegensatz stehenden Auslösung aufgehäufter Spannkräfte durch Vermittelung eben jener materiellen Energiesubstrate, die wir als Katalysatoren für die unbelebte, als Fermente für die organische Welt bezeichnen.[3]) Ebensowenig wie der electrische Funke im Eudiometer die eigentliche Ursache der gewaltigen Energieentladung bei der Vereinigung von Wasserstoff und Sauerstoff ist, sondern nur das „auslösende Moment“, so wenig wie die gewaltsame Erschütterung durch Aufschlagen die Ursache der Explosion einer Nitroglycerin-

1) Fick, Pflüg. Arch. 45. 293.
2) Sacharoff, Centralbl. f. Bact. 24. 661 (1898). Spitzer, Pflüg. A. 67.
3) s. d. Stohmann, Z. f. Biol. 31. S. 385.

patrone ist: so wenig ist das Ferment die Ursache der von ihm bewirkten Umsetzungen; dies geht ja mit Sicherheit daraus hervor, dass das Ferment bei den von ihm bewirkten Entladungen von aufgehäuften Energiemassen in seiner Eigenart gar nicht geschädigt wird, sondern intact bleibt. Es giebt eben nur den Anstoss zu der Umwandlung labiler Atomgruppirungen in stabilere, die, sobald sie erst einmal in Bewegung gesetzt ist, ohne weitere Beeinflussung durch äussere Momente sich vollzieht.

Es folgt aus dieser Anschauung ohne Weiteres, dass die auf diese Weise bei der Fermentation neu entstehenden Producte eine geringere Summe von potentieller Energie besitzen müssen, als das Ausgangsmaterial, da ja eben ein Theil der in diesem letzteren aufgehäuften Spannkraft bei dem Process als kinetische Energie (besonders Wärme) in Freiheit gesetzt wird. Die Producte jeder Fermentation müssen also in Summa eine geringere Verbrennungswärme besitzen, als das Ausgangsmaterial, da uns ja diese als Maass der noch vorhandenen Spannkräfte gilt. Wir sehen also, dass alle Fermentationen exothermale Processe sein müssen, dass aber im Gegensatz dazu man kein Recht hat, auch chemische Processe als Fermentwirkungen zu bezeichnen, bei denen die Zufuhr von Energie von aussen her nöthig ist, die also endothermal sind, bei denen die Summe der potentiellen Energie der neu entstehenden Körper eine grössere ist, als die des Ausgangsmaterials.

Wenn wir diese Betrachtungsweise von dem allgemein energetischen Standpunkt auf chemische Vorgänge übertragen, so sehen wir also, dass unter den Beschränkungen, die für fermentative Processe gelten, wo ja der einfache Austausch von Atomgruppen verschiedener Spannkraft (Substitution) nicht wie bei vielen rein chemischen Processen vorkommt, nur zwei chemische Vorgänge ohne Zwang auf fermentative Wirkungen zurückgeführt werden können, nämlich vor Allem die Spaltung unter Aufnahme der Elemente des Wassers, die hydrolytische Spaltung analog der durch Säuren oder Alkalien ausgeübten; und ferner die Oxydation, meist in Verbindung mit Trennung der Molecüle, also die oxydative Spaltung, mag sie nun mit Verbrauch atmosphärischen Sauerstoffs einhergehen, oder ohne dessen Zuthun, als „innere Oxydation" verlaufen (s. u.). Dagegen ist es nach unserer Anschauung nicht zulässig, andere Processe, namentlich Vorgänge reductiver oder synthetischer Art auf Fermentwirkungen zurückzuführen.

Es erscheint mir dringend nöthig, diese Einschränkung für das Wesen der fermentativen Processe zu postuliren, weil es bei den engen Beziehungen, in denen die Fermente zum Lebensprocess, besonders

niederer Organismen stehen, nur durch diese strenge Unterscheidung gelingen kann, eine feste Grenzlinie zu ziehen zwischen den fermentativen Vorgängen, die von lebenden Zellen veranlasst werden, und den rein biochemischen Umsetzungen, die wirklich durch den Stoffwechsel der Lebewesen bedingt und untrennbar fest mit diesem verknüpft sind. Man muss unterscheiden lernen zwischen den Fermenten der lebenden Zellen, deren Thätigkeit man sich auch getrennt von dieser vorstellen kann, und die ja auch de facto in vielen Fällen wirklich von der Zelle losgelöst werden können, und den Lebensvorgängen der Zelle als solchen, für die natürlich auch reductive und synthetische, endothermale Processe zugänglich sind.

Man darf nicht mehr die Fermentwirkungen, oder wenigstens einen wichtigen Theil derselben, mit dem Stoffwechsel gewisser niederer Organismen identificiren; die „Gährungs"erscheinungen sind, wie wir später sehen werden, gemischt aus Vorgängen, die entweder sicher fermentative sind oder zum mindesten ohne Zwang als solche aufgefasst werden können und anderen, bei denen reductive und synthetische Processe mitspielen, die nur durch den rein vitalen Stoffwechsel dieser Lebewesen erzeugt werden. Man thut deshalb vielleicht am besten, für diese Betrachtungen[1]) den Begriff der „Gährung", wie er sich historisch entwickelt hat, ganz über Bord zu werfen und zu unterscheiden zwischen Fermentwirkungen der niederen Lebewesen, die völlig in Analogie zu setzen sind mit denen höherer Thiere und Pflanzen und der Biochemie der Mikroorganismen im engeren Sinne, die in unmerklichen, nirgends scharf abgrenzbaren Uebergängen sich derjenigen der höheren Lebewesen nähert. Wenn man sich nicht dazu entschliesst, chemische Vorgänge in niederen Wesen, die endothermal verlaufen, von den fermentativen Processen in denselben völlig zu scheiden, so ist es absolut unmöglich, das Gebiet der Fermentwirkungen einheitlich zu umgrenzen.

Processe wie z. B. die Reduction des atmosphärischen Stickstoffs zu Ammoniaksalzen, die Reduction der Zucker zu Mannit, der Ameisensäure zu Grubengas, der Reduction von Schwefelverbindungen durch Beggiatoa-Arten (Cohn)[2]) etc., die durch Mikroorganismen ausgelöst werden, sind derartige Vorgänge, die man von den fermentativen Processen trennen muss und der Biochemie der Mikroorganismen zuzuweisen hat.

Wir ziehen also die trennende Grenzlinie nicht mehr zwischen

---

1) Natürlich nur für diese theoretische Betrachtung. Für die Praxis ist uns vorläufig wenigstens der Terminus „Gährung" zu werthvoll, um ihn verschwinden zu lassen.

2) Cohn cit. nach Pfeffer, Pflanzenphysiologie. Leipzig, 1881. S. 369.

organisirten und ungeformten Fermenten, sondern zwischen Fermenten überhaupt im angegebenen Sinne und dem Lebensprocess als solchem, dessen Energieumsetzungen keinen Beschränkungen unterliegen, da er in seinem Protoplasma eine Energiequelle besitzt; wir differenziren nicht mehr nach dem biologischen Princip, sondern nach dem energetischen.

Der Grund, warum man die fermentativen Vorgänge in so engen Connex mit dem Stoffwechsel der niederen Lebewesen gebracht hat, ist wie wir bereits auseinandergesetzt haben, der, dass man bis vor kurzem viele Vorgänge unzweifelhaft fermentartiger Natur als untrennbar von der lebenden Zelle ansah. Man unterschied in diesem Sinne zwischen den Fermenten, die auch unabhängig von der lebenden Zelle ihre Wirkung entfalten können, die man als ungeformte Fermente oder nach dem Vorschlage Kühne's als Enzyme bezeichnet, und den geformten oder organisirten Fermenten, die nur im unmittelbaren Contact mit der lebenden Zelle wirksam sind. Im weiteren Sinne bezeichnete man dann auch die Träger dieser Fermente selbst, also die Zellen, als organisirte Fermente.

Wir haben indessen gezeigt, dass ein durchgreifender Wesensunterschied zwischen ungeformten und geformten Fermenten nicht existirt, sondern dass zwischen ihnen nur quantitative Unterschiede in der Art des mehr oder minder festen Zusammenhangs mit dem lebenden Protoplasma obwalten. Und wenn wir aus den bisher bekannten dahinzielenden Thatsachen den Schluss ziehen dürfen, dass thatsächlich alle Fermente im strengsten Sinne unabhängig von der Vitalität der Zelle wirken, dass es nur mehr oder minder schwierig gelingt, diese Unabhängigkeit zu constatiren, so würde die Scheidewand zwischen ungeformten und geformten Fermenten zu Gunsten einer einheitlichen Betrachtungsweise aller echten Fermentwirkungen schwinden, selbst wenn, wie es thatsächlich bisher der Fall ist, es einige derartige Wirkungen giebt, die noch nicht vom lebenden Protoplasma getrennt werden können, ja selbst, wenn dies auch in Zukunft nicht gelingen sollte.

Allen Fermenten ist es gemeinsam, dass sie von lebenden Zellen erzeugt werden, wesentlich verschieden ist aber das Verhältniss, in dem sie nach ihrer Bildung zur Mutterzelle stehen. Wir sahen, dass der Grad dieses Zusammenhangs wechselt von den einfach secernirten Fermenten bis zu solchen, die bisher absolut nicht von den lebenden Zellen getrennt werden können. (Milchsäuregährung.) Aber es ist für unsere Betrachtungsweise nicht von entscheidender Wichtigkeit, ob die Thätigkeit eines Fermentes wirklich von der Lebensthätigkeit der es erzeugenden Zelle getrennt beobachtet werden kann; es ist genügend,

wenn seine Wirkung unter diesen Bedingungen vorgestellt werden kann. Zu dieser Vorstellbarkeit gehört eben die Bedingung, dass die Thätigkeit von der specifischen Energie der lebenden Zelle unabhängig sein kann. Und das ist wieder erfüllt, wenn die Wirkung eine überhaupt von der Zufuhr äusserer Energie unabhängige ist, wie wir oben auseinandergesetzt haben, d. h. wenn der zu untersuchende chemische Process ein exothermaler, entweder eine hydrolytische oder eine oxydative Spaltung ist.

Wir werden uns also von dem Unterschiede zwischen geformten Fermenten und Enzymen, wenigstens theoretisch, emancipiren und alle diejenigen Processe als fermentative bezeichnen, bei denen durch lebende Zellen oder ihre Producte derartige exothermale Spaltungsprocesse ausgelöst werden. Wir werden andererseits alle die Processe von den Fermentwirkungen sondern, bei denen die lebende Zelle kraft der ihr von aussen zugeführten Energie endothermale, also reductive und synthetische Processe vollzieht, weil unseres Erachtens derartige Vorgänge als ausschliesslich dem Lebensprocess als solchem angehörige einem ganz anderen Wissensgebiet, nämlich der Biochemie des Protoplasmas im engeren Sinne zugeordnet werden müssen. Diese Lehre umfasst die Biochemie der höheren Lebewesen genau so wie die der niederen; die Synthese von Kohlehydraten und Eiweissstoffen, von Alkaloiden, Farb- und Bitterstoffen der höheren Pflanzen ebensowohl wie die des Glycogens, der Hippursäure, des Harnstoffs etc. der höheren Thiere und wir werden es durchaus ablehnen, solche Vorgänge unter die Fermentwirkungen zu subsumiren. Wir können also in diesem Sinne ein „harnstoffbildendes Ferment" der Leber[1]) ebensowenig anerkennen, wie ein „reducirendes Ferment" der Gewebe; genau so wenig, wie irgend Jemand einer Annahme eines „strychninbildenden Fermentes" in Strychnos-Arten oder eines „inulinbildenden Fermentes" in Georginensamen seine Zustimmung erteilen würde.

Ich muss hier noch auf einen principiell sehr wichtigen Punkt eingehen. Theoretisch könnte man in der Consequenz der rein energetischen Anschauung der Fermentprocesse so weit gehen, dass man nunmehr alle exothermalen Processe der lebenden Zelle principiell von den endothermalen trennt, jene in ihrer Gesammtheit als Ferment-

1) Dies gilt natürlich nur insoweit, als die Harnstoffbildung in der Leber nach der üblichen Vorstellung ein synthetischer Process ist (aus Ammoniumcarbonat); nicht aber für die Erklärung der Abspaltung des Harnstoffes aus grösseren Molecularcomplexen, wie sie Richet (Compt. rend. **118.** S. 1127) durch ein Leberenzym sich vollziehen lässt (s. d. Nähere im speciellen Theil bei Harnstoffferment).

processe hinstellt, diese im Gegensatz dazu als specifisch vitale ihnen gegenüber stellt. Man würde dann auch die weitgehenden Verbrennungsprocesse in lebenden Zellen, die zur Bildung von Endproducten führen, die gar keine Spannkraft mehr besitzen, also besonders von Kohlensäure, Wasser und ad maximum mit Sauerstoff gesättigten Salzen, z. B. Sulfaten und Phosphaten als Fermentprocesse bezeichnen. Ich möchte indessen diese radicale Consequenz nicht ziehen. Zwar muss ich alle Fermentprocesse für exothermal halten; indessen brauchen darum nicht alle exothermalen Processe der Organismen fermentativer Natur zu sein. Wir müssen wenigstens so weit als möglich den historischen Begriff zu schonen versuchen und nicht durch zu weit gehende Verallgemeinerung Gefahr laufen, incohärente Dinge unter einen gemeinschaftlichen Begriff zu bringen und damit unter Umständen wieder neue Verwirrungen zu schaffen. Diese völligen Oxydationen, in denen die lebende Zelle die vorhandene Spannkraft eines Stoffes so restlos für sich verwendet, indem sie seine sämmtlichen Affinitäten mit Sauerstoff sättigt, sind doch wesentlich verschieden von den Fermentvorgängen, wo aus labileren Gleichgewichtszuständen unter Abgabe von Energie sich stabilere, aber ebenfalls noch Spannkraft enthaltende Gleichgewichte herstellen. Der fermentative Modus braucht eben nicht der einzige zu sein, um hochmoleculare Stoffe abzubauen, über den die lebende Zelle verfügt. So wenig wie eine Analogie besteht zwischen der Spaltung der Stärke durch verdünnte Säuren und ihrer völligen Oxydation zu Kohlensäure und Wasser durch glühendes Kupferoxyd oder Kaliumbichromat und Schwefelsäure, so wenig sind wir verpflichtet, auch die restlose Verbrennung der Kohlehydrate im Organismus mit den vorbereitend fermentativen Spaltungen zu analogisiren. Obwohl es theoretisch nicht völlig von der Hand zu weisen ist, dass vielleicht wirklich alle solche Processe indirect, d. h. durch Fermente bewirkt werden, widerspricht doch unserer Vorstellung eine solche Annahme, für die gar keine experimentellen Belege zu finden, zu sehr, um eine solche Analogie zwischen den einfachen Spaltungen und den radicalen Verbrennungen zu ziehen.

Ob man für diese „Verbrennung“ die intramoleculare Athmung nach Pflüger oder die Einsturzhypothese von Kassowitz annehmen will: jedenfalls hiesse es meiner Meinung nach zu weit gehen, diese Oxydationserscheinungen, nur weil sie auch exothermal sind, ohne Weiteres als Fermentprocesse zu bezeichnen. Wir wollen uns damit begnügen, eine einheitliche Auffassung der Fermentvorgänge auf thermodynamischer Basis versucht zu haben, nicht aber damit nun alle exothermalen Vorgänge im Lebensprocess erklären.

So einfach indessen diese rein energetische einheitliche Auffassung des Fermentbegriffes theoretisch ist, so ergeben sich doch einige Schwierigkeiten, wenn man daran geht, nunmehr auf Grund dieser Begriffsbestimmung die positive Umgrenzung des zu behandelnden Materials zu formuliren.

Zwar wird man vieles ohne Weiteres ausschalten dürfen, wie ich schon soeben andeutete, wo zweifellos endothermale Processe allein oder ganz überwiegend auftreten, anderes ohne Bedenken einreihen; doch bleibt ein nicht unbedeutender Rest, wo die festen theoretischen Grundlagen fehlen und man mit mehr oder minder Willkür verfahren muss.

Dies gilt namentlich von den unübersehbar mannigfachen Umsetzungen, welche durch Mikroorganismen ausgelöst werden. Manche von diesen sind reine Spaltungen und als solche exothermal, d. h. Fermentprocesse, wie z. B. die Spaltung des Traubenzuckers in Milchsäure, die ja auch durch glatte chemische Spaltung aus ihm entsteht; desgleichen die Lösung von Eiweissstoffen, wie der Gelatine, durch Fermente der Bacterien, die man zum Theil sogar isoliren kann.

Andere Bacterienwirkungen sind ohne Weiteres als reine Stoffwechselproducte von den Fermentprocessen zu trennen; so die Entstehung des Tuberkelfettes u. s. w. auf eiweissfreien Nährböden, wo also ohne Zweifel synthetische Processe vor sich gehen.

Complicirter und schwieriger zu entscheiden sind zahlreiche andere Fälle; doch liegt hier die Sache so, dass man meist mit grosser Bestimmtheit die Vorgänge dem Stoffwechsel zuschreiben darf, da man anderenfalls in demselben Organismus zahlreiche, sonst unbekannte Enzyme annehmen müsste. Ein Beispiel für viele mag darthun, ob ich berechtigt gewesen bin, alle diese eigenartigen Umsetzungen der Bacterien fortzulassen, obgleich vielleicht ein Theil der Processe wirklich fermentativ ist.

Der Pneumobacillus Friedländer erzeugt nach Grimbert[1]) aus Mannit viel Milchsäure, gleich viel an Essigsäure und Alkohol; aus Dulcit viel Bernsteinsäure, keine Milchsäure, wenig Essigsäure, viel Alkohol; aus Arabinose viel Milchsäure, keine Bernsteinsäure, viel Essigsäure, keinen Alkohol; Xylose verhält sich wieder anders.

Aehnlich wirken andere Mikroben. Wenn ich also auch, wie gesagt, gern zugeben will, dass hier auch wirkliche fermentative Processe mitspielen, so erscheint es doch aus praktischen Gründen unthunlich, alle diese Vorgänge in einer Abhandlung über Fermente

1) Grimbert, C. R. soc. biolog. 48. 191.

zu besprechen. Sie gehören praktisch der Biochemie der Mikroorganismen an.

Aus ähnlichen Gründen habe ich mich entschlossen, die Fäulnissvorgänge im engeren Sinne hier fortzulassen. Wenn auch bei diesen Umsetzungen, z. B. der Cellulose, des Glycerins, der Eiweissstoffe u. s. w., wie sie die Mikroben der Fäulniss hervorrufen, sicher auch echte Fermentwirkungen mitspielen, so sind sie doch derartig verflochten mit anderen Processen zweifellos rein biochemischen, reductiven Charakters, dass es unmöglich ist, sie daraus zu isoliren und unter die Fermentwirkungen einzureihen. Wenn auch aus den Proteiden bei der Fäulniss durch echte Fermentation typische hydrolytische Spaltproducte entstehen, so werden sie doch zum grossen Theil später durch rein biochemische Vorgänge, durch Reduction und Synthese weiter verändert. So entstehen wahrscheinlich die Indolderivate aus den Amidosäuren durch Synthese und Reduction; sicherlich aber sind durch Reductionen gebildet die Fäulnissbasen, wie z. B. Putrescin und Cadaverin,[1]) Fettsäuren und der Schwefelwasserstoff; analog aus der Cellulose das Methan.

Auf jeden Fall ist es unmöglich, sich bei diesen ausserordentlich complicirten Combinationen der verschiedensten chemischen Reactionen die Vorstellung eines wirklichen Fermentprocesses zu machen, der unabhängig vom Lebensprocess gedacht werden kann, und keinem Buchner wird es gelingen, ein Fäulnissenzym mit seinen typischen Wirkungen aus den Bacterien darzustellen.

Aehnlich scheint es sich mit der sog. Buttersäuregährung zu verhalten. Soweit sie sich mit Sicherheit auf eine durch Mikroben hervorgerufene Reduction von Oxysäuren zurückführen lässt, ist sie sicher kein fermentativer Process. Sie ist es wahrscheinlich überhaupt nicht, auch wenn die Buttersäure direct aus Zuckerarten entsteht; für jeden Fall ist sie ein so wenig einheitlicher Vorgang, bei dem jede Mikrobenart und jedes Material zu anderen Producten führt, dass es unmöglich erscheint, hier einen echten fermentativen Process aus dem Knäuel biologischer Umsetzungen herauszusuchen. Ich verzichte deshalb auf ihre Erörterung ebenso wie auf die der „Schleimgährung“ und anderer Umsetzungen der Kohlehydrate, die durch Mikroorganismen bedingt werden.

---

1) Ellinger (Chem. B. 32. [1899]) hat diese Basen direct aus Ornithin und Lysin durch Fäulniss abspalten können.

Drittes Capitel.

Die chemische Natur der Fermente.

Diese Frage ist zunächst für die „geformten" Fermente in ein paar Worten abgethan. Sie sind als Bestandtheile des Protoplasma der chemischen Untersuchung überhaupt nicht zugänglich. Auch die Zymase Buchner's ist noch nicht so weit isolirt, dass an eine eingehende chemische Prüfung gedacht werden kann. Sie scheint indessen den Eiweisskörpern zum mindesten sehr nahe zu stehen.

Es handelt sich also im Wesentlichen um die Enzyme. Während nun manche, besonders französische Forscher (Arthus) die Enzyme als immaterielle Energiecentren auffassen, die an ein für ihre Wirkung gleichgiltiges Substrat gebunden sind und sogar Fernwirkungen auszulösen im Stande sein sollen,[1]) halten die Meisten die Enzyme für wirkliche chemische Stoffe.

Welcher Art aber diese Stoffe sind, darüber hat der lange Streit noch gar keine Entscheidung gebracht.

Die an und für sich schon grossen Schwierigkeiten derartiger Untersuchungen werden dadurch noch verzehnfacht, dass es unendlich schwierig ist, die Fermente von Beimengungen zu befreien. Daher

1) Man vergleiche dazu die höchst seltsamen Befunde von de Jager, Virch. A. 121. 182. (1890), der eine völlige Immaterialität der Fermente behauptet und nun zur Stütze der Theorie Fernwirkung der Enzyme durch Aether, sogar durch die Luft (!) und Spontanbildung fermentirender Substanzen beobachtet haben will. Eine solche fortgepflanzte Wirksamkeit durch neutrale Medien wurde speciell für das Labferment von Fick angenommen (Pflüg. Arch. 45. 293 (1889), der fand, dass Milch, die vorsichtig über wirksame Fermentlösung geschichtet wurde, doch sofort ganz gerinnt, obwohl also die oberen Schichten nicht mit dem Ferment so schnell in Berührung traten; diese interessante Beobachtung wurde indessen von Latschenberger (C. f. Phys. IV. No. 1 [1890]) und Lea und Dickinson (J. of physiol. XI. 307) widerlegt, die zeigten, dass, wenn man wirklich die Mischung verhütet, eine Gerinnung der oberen Schichten erst nach mehreren Stunden eintritt. S. d. auch Walther, Pflüg. A. 48. 529.

kommt es, dass trotz aller Bemühungen auch heute noch kein Ferment in auch nur annähernd reinem Zustande dargestellt ist.

Die Fermente haben die Eigenschaft, durch fallende Niederschläge aus ihren Lösungen mitgerissen zu werden, was besonders ihre Trennung von Eiweissstoffen erschwert. Ferner darf die Temperatur bei allen Manipulationen niemals über 70° hinausgehen, weil bei dieser Erwärmung die Fermente unwirksam werden und dann jede Möglichkeit ihrer Erkennung verloren geht.

So ist es denn nicht zu verwundern, wenn auch heute noch nicht einmal die erste Frage, ob man die Fermente als Eiweisssubstanzen anzusehen hat, eine befriedigende Lösung gefunden hat.

Die alten Beobachter hielten ohne Weiteres die Fermente für „albuminoïde Substanzen" (Liebig, Robiquet etc.).

Später hingegen traten viele Untersucher sehr energisch dagegen auf; besonders Hüfner für das Pancreatin (Trypsin), Wurtz für das Papaïn, Barth und Zulkowski für die Diastase. Sie stützten sich dabei hauptsächlich auf die von den Eiweisskörpern sehr abweichenden Analysenzahlen.

Alle diese älteren Arbeiten sind indessen heute gegenstandslos geworden, weil es völlig klar ist, dass diese Forscher ausserordentlich unreine, zum Theil besonders viel höhere Kohlehydrate mitführende Präparate vor sich hatten, so dass die Analysenzahlen ohne jeden Wert sind. Ich verzichte deshalb auch auf ihre Mittheilung.[1])

Loew[2]) hatte es also nicht schwer, die Bedeutungslosigkeit aller bisherigen Untersuchungen zu erweisen, als er die Behauptung aufstellte, dass die Fermente verschiedene „active Peptone" seien.

Besonders wichtig für seine völlig berechtigte Kritik war sein Nachweis, dass die sacharificirenden Fermente stets mit unlöslichen Kohlehydraten, namentlich Gummistoffen und Dextrinen verunreinigt sind, was nicht nur sehr störend auf die gefundenen Analysenzahlen, sondern auch auf die Untersuchung der Spaltproducte wirken musste. So führt Loew aus, dass der Befund von Barth, den er gegen die Eiweissnatur der Invertase geltend gemacht hatte, dass er nämlich bei der Spaltung mit Schwefelsäure kein Leucin finden konnte, sich dadurch erklärt, dass etwa vorhandenes Leucin aus dem entstandenen zuckerhaltigen Syrup nicht auskrystallisiren konnte. Er selbst erhielt von der Diastase ein reineres Präparat, das die Reaction der Peptone (wohl nach der heutigen Anschauung eher der Albumosen) zeigte.

Er nahm für die Entstehung der ungeformten Fermente aus Proto-

---

1) Man findet eine Tabelle bei Loew, Pflüg. A. 27. 204.

2) Loew, Pflüg. A. 27. 203 (1882).

plasmaeiweiss eine „Depolymerisirung" an, bei der von den ca. 12 Aldehydgruppen, die nach seiner Anschauung[1]) das Protoplasmaeiweiss enthält, nur noch 2—3 erhalten bleiben sollen. Er versucht dann den Nachweis freier Aldehydgruppen in den Enzymen und zeigt, dass actives Pancreasferment mit neutralem Silberoxyd eine intensive Schwärzung ergiebt, während gekochte, also inactivirte Enzymlösungen nur eine sehr schwache Bräunung unter denselben Bedingungen zeigen.

Diese sehr interessante Thatsache stellt den einzigen Befund dar, der einen chemischen Unterschied zwischen wirksamen und unwirksamen Fermenten constatirt. Sie ist allerdings nur einmal und zwar von Macfadyen[2]) für Glycerinextracte von Vibrionen, besonders der Cholera bestätigt worden, der sich auch sonst der Loew'schen Anschauung, dass die Fermente „labile" Eiweisskörper sind, anschliesst. Sie sollen diese Natur auch dadurch documentiren, dass sie Amidogruppen enthalten, was Loew[3]) dadurch wahrscheinlich zu machen sucht, dass sie durch Formaldehyd unwirksam werden. Diese gleichzeitige Anwesenheit von Aldehyd- und Amidogruppen soll ihre Labilität bedingen. Nun sollen ja aber die Fermente gar nicht labil sein, sondern beständig, sie sollen ja nur andere labile Molecüle (potentiell-labile nach Loew) zum Einsturz bringen; freilich hat man einige Gründe, anzunehmen, dass sich die Fermente vor ihrer Wirkung an die Substrate binden, womit wohl auch intermediäre Aenderungen ihrer eigenen Structur einhergehen mögen. Doch sind die ganzen Verhältnisse noch viel zu dunkel, um die Loew'sche Anschauung mit Erfolg als heuristisches Princip verwerthen zu können. Was den Ausgangspunkt der theoretischen Betrachtung, die Annahme einer Eiweissnatur der Fermente, betrifft, so haben auch die Loew'schen Versuche die Frage ihrem Abschluss nicht näher gebracht. Dass wirksame Fermente Eiweissreactionen geben, beweist nur, dass auch die sorgfältig gereinigten Fermentlösungen noch Eiweissstoffe enthalten; es kann aber dadurch nicht bewiesen werden, dass diese Eiweisssubstanzen die Fermente selbst sind.

In der That hat man später durch erneute mühsame Reinigungsprocesse, besonders von Pepsin und der Invertase sehr wirksame Präparate gewonnen, die keine Eiweissreactionen mehr geben. Den oft gemachten Einwand,[4]) dass das Ferment selbst in diesem Falle doch noch ein Eiweisskörper sein kann, der nur in so geringer Menge

1) Loew, Pflüg. A. 22. 503 (1880).

2) Macfadyen, Journ. of Anatomy and physiology 26. 409 (1892).

3) Loew, Science 1899. S. 955. S. A. Er citirt dort noch einen ähnlichen Befund von Nencki.

4) s. u. a. Pekelharing, Z. phys. Ch. XXII.

vorhanden ist, dass die üblichen Reactionen versagen, während das Ferment selbst in dieser ungeheuren Verdünnung noch wirkt, kann man leicht widerlegen. Wir haben vor uns eine trockene Substanz, die reichlich in Wasser gelöst, keine Eiweissreactionen mehr giebt, auch nur unbedeutende Mengen von Asche und Kohlehydraten enthält; hier liegt also sicher ein chemischer Stoff eigener Art vor, der nun entweder das Ferment selbst ist, oder an den das Ferment gebunden ist; jedenfalls ist doch in solchem Falle das Ferment kein Eiweisskörper.

Indessen gilt das nicht ohne Weiteres für alle Enzyme. Gerade die letzten Arbeiten über die Diastase (Wróblewski) scheinen zu beweisen, dass die reine Diastase ein albumosenähnlicher Stoff ist und auch vom Trypsin kann man die Eiweissnatur absolut nicht abstreifen.

Das Unangenehme bei all diesen Untersuchungen ist immer der Umstand, dass man die Fermente nur an ihrer specifischen Wirksamkeit erkennen kann; dass sie aber jeder chemischen Reaction entbehren. Denn einige Farbenreactionen, z. B. mit Orcin und Salzsäure (s. b. Emulsin), sind so unsicher und höchstwahrscheinlich nur ständigen Verunreinigungen zuzuschreiben, dass es sich gar nicht verlohnt, sie etwa als allgemeines Reagens auf Enzyme anzuführen.

So ist denn die Constitution der Enzyme heute noch eine einzige grosse Räthselfrage. Denn auch für jene scheinbar eiweissfreien Enzyme liegen genauere chemische Untersuchungen nicht vor.

In neuerer Zeit ist dann verschiedentlich die Ansicht ausgesprochen worden, dass die Fermente noch complicirter gebaut seien als die Eiweisskörper im engeren Sinne.

Schon Kühne hatte für das Trypsin angegeben, dass es beim Erhitzen und mit Säuren einen Eiweisskörper abspaltet. Er schrieb ihm dem zu Folge eine sehr complicirte Structur zu.

Dann wurde zuerst von Pekelharing[1]) dem Gedanken Raum gegeben, dass das Pepsin ein Nucleoproteïd sein dürfte. Er stellte aus Magensaft ein sehr wirksames Product her, das er für ein sehr reines Pepsin hält und das bei der Spaltung neben einem eiweissähnlichen Stoff Xanthinbasen, indessen kein fassbares Kohlehydrat lieferte.

Auch Spitzer nimmt für einen Theil wenigstens der Oxydasen des thierischen Körpers die Constitution von phosphorhaltigen und eisenhaltigen Nucleoproteïden in Anspruch.

Friedenthal[2]) hat dann aus ganz reinem Magensaft von Hunden, der durch eine Fistel erhalten war, nur einen einzigen, durch Fällung

1) Pekelharing, Z. ph. Ch. 22. 233.
2) Friedenthal, Arch. f. Anat. u. Phys. Ph. A. 1900. 181.

in saurer Lösung dargestellten Eiweisskörper erhalten, der bei der Spaltung mit concentrirter Salzsäure Xanthinbasen und die Farbenreactionen der Pentosen lieferte und Phosphor und Eisen enthielt. Er konnte diesen Stoff sowohl aus diesem Magensaft wie aus käuflichen Pepsinpräparaten durch Aussalzen mit Ammonsulfat gewinnen. Er spricht ihn für einen sehr complicirt gebauten, nucleoproteïdähnlichen Körper an.

Aehnliche Präparate erhielt er aus käuflicher Diastase durch Aussalzen mit Kochsalz in schwach essigsaurer Lösung. Andere Eiweisskörper fand er im Gegensatz zu Wróblewski nicht. Auch Pancreatin (Riedel) und Papayotin (Riedel) lieferten bei derselben Behandlung Nucleoproteïde, die Friedenthal für die wirksamen Fermente halten möchte. Indessen ist dabei zu erwähnen, dass z. B. sein Diastasepräparat ihm nur 0,76 % an Nucleoproteïd lieferte. Da er nun ausserdem ablehnt, dass dem Wróblewski'schen Araban (s. b. Diastase) ein wesentlicher Antheil an der Zusammensetzung der Diastasepräparate zukommt und ein anderer Eiweisskörper sich ebenfalls darin nicht findet, so entsteht doch die Frage, was denn eigentlich die übrigen ca. 99 % des Trockenpräparates ausmacht. Es kann doch der fehlende Rest nicht ausschliesslich aus Asche oder Traubenzucker, den er in dem Präparat allerdings reichlich fand, bestehen. Einer definitiven Lösung der Frage nach der Natur der Fermente sind wir auch jetzt noch nicht nahe, wie es ja auch Friedenthal selbst am Schlusse seiner interessanten Arbeit zugiebt. Moraczewski[1]) hält die Enzyme für „Spaltproducte derjenigen Körper, auf welche sie specifisch einwirken" und glaubt den in ihnen vorkommenden Kalksalzen eine fundamentale Wichtigkeit zuschreiben zu dürfen; was er allerdings eigentlich meint, ist mir nicht völlig klar geworden; dass er keinen Beweis für seine Anschauungen hat, giebt er selbst zu.

Die grosse Schwierigkeit der Isolirung der Fermentstoffe und die Eigenart ihrer Wirkungen, besonders aber die grosse Bedeutung, die sie für den Lebensprocess haben, hat einige Forscher zu der Anschauung geführt, dass die Fermente auch stofflich in einem sehr viel engeren Connex mit dem Protoplasma stehen, als gemeinhin angenommen wird. Die meisten drücken sich dabei ebenso vorsichtig als unklar dahin aus, dass in den Fermenten „Protoplasmasplitter", begabt mit „Resten von vitalen Kräften" oder dergleichen vorlägen.[2]) Mit solchen völlig begrifflosen, absolut jedem empirischen Boden entzogenen Ausdrücken

---

1) Moraczewski, Pflüg. A. 69. 32 (1898).

2) s. z. B. Loew, Pflüg. A. 27. 210. A. Mayer, Enzymologie. Heidelberg 1882 u. a.

ist aber gar nichts anzufangen, da sie sich jeder Kritik entziehen. Als heuristisches Princip sind sie gänzlich unfruchtbar. Armand Gautier[1]) hat dann diese merkwürdige Ansicht in consequenter Weise verfolgt, indem er den Fermenten nicht nur „Reste" von vitalen Kräften, sondern ein bedeutendes Maass davon zuspricht, da er ihnen sogar die Fundamentalerscheinungen der Zelle, nämlich die Assimilation und Reproduction zuschreibt. Er betrachtet also gewissermassen die Fermente als gelöste Zellen. Diese auf einen einzigen Versuch basirte Hypothese widerspricht alle dem, was man in mühsamer experimenteller Arbeit an Unterschieden in der Beeinflussung lebender Zellen und Fermenten aufgefunden hat. Wenn Gautier nicht sehr gewichtige Stützen für seine Anschauung noch in petto hat, so dürfen wir sie wohl als Curiosum bei Seite legen; man sieht indessen, wohin eine consequente Durchführung der Idee von den „Protoplasmasplittern" führt. Eine Erscheinung giebt es allerdings, die, obzwar nicht speciell zu unserem Thema gehörig, die Möglichkeit offen lässt, dass es vielleicht wirklich „gelöste Zellen", d. h. vitale Kräfte in ungeformten Medien geben mag. Ich meine die von Beyerinck[2]) erforschte Mosaikkrankheit der Tabakspflanze, die zweifellos eine contagiöse Affection ist, ohne dass Beyerinck irgend welche Mikroben finden konnte, und die sich nach seiner Ansicht durch ein „Contagium vivum" fortpflanzt, ein Contagium, das sich allerdings sogar durch Alkohol fällen lässt, ohne unwirksam zu werden. Es scheint sich danach doch mehr um eine Intoxication als eine Infection zu handeln. Die ganze Frage ist noch sehr dunkel: Es haben andere Beobachter doch Mikroben gefunden, andererseits können diese sich durch ausserordentliche Kleinheit oder andere Eigenschaften dem Beobachter entziehen.

Wir kennen ja auch nicht die Erreger so zweifellos contagiöser Erkrankungen, wie Scharlach, Pocken und Syphilis. Auffallend ist allerdings, dass gerade alle diese supponirten äusserst kleinen Mikroben auch auf absolut keinem bekannten Nährboden Culturen erzeugen. Die Möglichkeit ist nicht auszuschliessen, dass auf Grund solcher „flüssiger Contagien", die vielleicht auch jene Menschenkrankheiten erzeugen, wirklich unsere Vorstellung von der „Zelle" eine so wesentliche Umwälzung erfahren wird, dass thatsächlich vitale Kräfte in ungeformten Medien wirken können. Und dann hätte Gautier's Anschauung auch ihre Berechtigung. Aber auch nur dann kann man sie überhaupt einer ernstlichen Kritik unterziehen. Jedenfalls aber ist

---

1) *Armand Gautier, cit. n. Effront „Les diastases." l. c. Das Original war mir nicht zugänglich.

2) Beyerinck, C. f. Bact. (II). 1899. 27.

sie im Hinblick auf die Möglichkeit solcher abgelösten Lebenscentren ungleich werthvoller, als das haltlose Gerede von „Resten" von vitalen Kräften. Die Fermente sind entweder vital oder sie sind es nicht. Compromisse giebt es da nicht. Vorläufig indessen müssen wir noch an ihrer Lostrennung vom Leben festhalten.

Wir müssen nun noch auf die Vorstellung eingehen, dass die Fermente überhaupt keine materiellen Substanzen, sondern nur Eigenschaften von Substanzen sind, eine Idee, wie sie namentlich von Arthus [1]) in sehr geistvoller Weise verfochten worden ist. Nachdem er in völlig einwandsfreier Weise nachgewiesen hat, dass die Versuche der Reindarstellung und chemischer Individualisirung der Fermente ohne wesentliches Ergebniss geblieben sind, zieht er dann eine Parallele zwischen den einfach physikalischen Kräften und den Enzymen. Gerade wie Licht, Wärme, Electricität u. s. w. zuerst als Stoffe betrachtet wurden, so ist es auch mit den Fermenten geschehen, und er spricht die Hoffnung aus, dass mit ihnen die Fermente bei fortschreitender Erkenntniss ebenfalls aus der Liste der Materie gestrichen werden und den imponderablen Energien zugerechnet werden müssen.

Mit vollem Recht führt er aus, dass die den Fermenten zugeschriebenen materiellen Eigenschaften auch den Kräften zuerkannt werden können; er weist darauf hin, dass ebenso wie die Wärme die Wirkung der Fermente aufhebt, sie auch, wenn auch bei höherer Temperatur, den Magnetismus vernichtet u. s. w.

Es ist sehr schwer, diesen Gedanken der Immaterialität der Fermente in seinen Consequenzen zu verfolgen; noch schwerer, ihn mit Gründen der exacten Wissenschaft zu bekämpfen. Denn hier handelt es sich um einen Gegensatz, der eigentlich nur scheinbar ist, und bei erkenntnisstheoretischer Betrachtung verschwindet.

Stellen wir uns auf den Boden der energetischen Weltauffassung, die überhaupt die objective Realität der Materie leugnet, und ausschliesslich mit Energieverhältnissen operirt, so ist diese Auffassung der Fermente selbstverständlich: wo überhaupt die Materie nur aus Energiecentren besteht, ist auch für eine materielle Auffassung der Fermente kein Raum.

Es fragt sich nur, inwieweit diese Betrachtungsweise innerhalb der dualistischen Anschauungsweise sich als fruchtbringend erweisen kann.

Die Materie ist für diese Anschauung nur ein metaphysisches Postulat; was uns von den Eigenschaften der Materie mit Hilfe unserer Sinne subjectiv zum Bewusstsein kommt, sind auch ausschliess-

---

1) Arthus, La nature des enzymes. Thèse. Paris 1896.

lich die Perceptionen von Energieausstrahlungen der Materie, nach denen wir unsere Begriffe formuliren.

Wir können auch die Wirkungen des Lichtes, der Wärme, der Electricität nicht anders erkennen, als indem wir die Kräfte uns an materiellen Substraten wirksam vorstellen. Wir fassen die Wärme auf als Schwingungen der materiellen Molecüle, den Schall als Schwingungen der Luft; auch für das Licht und die Electricität haben wir uns die Vorstellung eines materiellen Etwas gemacht, des hypothetischen Aethers. In diesem Sinne können wir uns auch die Fermentwirkungen nicht ohne ein irgendwie beschaffenes materielles Substrat vorstellen. Wenn wir diesen Gedanken weiter verfolgen, so kommen wir zu einem Vergleich mit den Erscheinungen, die den Fermentwirkungen am nächsten stehen, den Kraftentfaltungen der chemischen Energie. Es ist auffallend, dass Arthus gerade dem Verhältniss der Fermentwirkungen zu den einfachen chemischen Vorgängen in theoretischer Hinsicht nicht mehr Beachtung geschenkt hat. Die chemische Energie steht im engsten Connex mit den anderen Energieformen, mit denen sie sich im mannigfaltigsten Wechsel austauschen kann. Wo chemische Energie (Spannkraft) sich bildet, verschwindet andere (Licht, Wärme), wo chemische Spannkräfte sich ausgleichen, werden andere Energieformen in Freiheit gesetzt, und doch ist sie ganz besonders in ihrer Anschauungsform an materielle Substrate gebunden. Wenn wir z. B. von Schwefelsäure sprechen, die wir doch materiell auffassen wollen, so sprechen wir eigentlich stets ganz allein von den Energiebeziehungen dieses chemischen Substrates. Wir wissen, dass dieses Substrat einen besonderen Geschmack hat — Ausstrahlung einer eigenartigen Energie auf die Perceptionsorgane des Geschmacks — dass sie sich mit Basen verbindet, andere Säuren aus ihren Salzen verjagt etc.: alles energetische Vorstellungen, die aber für unsere Anschauung trotzdem fest mit dem materiellen Begriff: Schwefelsäure verbunden sind. Eine Schwefelsäurewirkung ohne Schwefelsäure ist uns empirisch undenkbar. Und wir wissen ferner, dass das Energiesubstrat, das wir Schwefelsäure nennen, Erscheinungen hervorzurufen im Stande ist, die andere ähnliche Energiesubstrate nicht erzeugen können. Und darum nehmen wir eben für die energetische Individualität auch eine materielle Individualität an und nennen eben dieses materielle Substrat im bewussten Gegensatz zu allen anderen materiellen Substraten: Schwefelsäure.

Ganz analog verhält es sich m. E. mit den Fermenten. Gesetzt den Fall, es gäbe ein absolut reines, von allen Beimengungen befreites Pepsin, so würden wir dies materielle Substrat auch nur dadurch individualisiren können, dass wir ihm allein zukommende, specifische

Energieausstrahlungen finden, also u. a. die Fähigkeit, den Zerfall von Eiweisssubstanzen zu veranlassen. Wir würden dann wie bei der Schwefelsäure aus den specifischen Energiewirkungen den Rückschluss machen auf eine materielle Individualität und würden diesen Stoff empirisch als chemisches Individuum, als materielles Pepsin bezeichnen.

So ist das Ferment als wirkendes Princip ebensowohl energetisch zu begreifen, wie die einfache Schwefelsäure; ein Grund, gerade diese specielle energetische Wirksamkeit von dem Begriff der Materie auch empirisch loszulösen, wie er erkenntnisstheoretisch davon losgelöst werden muss, liegt nicht vor; eine solche Auffassung würde nur zu einer Verwirrung zwischen unserer grob sinnlichen Vorstellung einer „chemischen Substanz“ und dem metaphysischen Verhältniss zwischen Materie und Energie führen.

Auch als heuristisches Princip würde uns diese Anschauungsform, abgesehen von ihrer metaphysischen Unhaltbarkeit nicht weiter führen.

Etwas anders gestaltet sich die Fragestellung, wenn wir das Problem rein empirisch fassen. Dann ist die Frage nicht mehr: Sind die Fermente Stoffe oder Eigenschaften von Stoffen? sondern dann heisst es: Sind die materiellen Substrate, an die wir die Fermentwirkungen gebunden glauben, für jedes einzelne Ferment bestimmte „chemische Stoffe“ oder kann sich diese Energieform als Substrat verschiedenartiger Stoffe bedienen?

Diese Frage wird sich vermuthlich experimentell entscheiden lassen. Indessen lassen sich a priori einige Betrachtungen aufstellen, welche es wahrscheinlich machen, dass die Fermente, materiell betrachtet wirkliche Stoffe sind. Wenn wir z. B. annehmen, dass die Wirkung der Diastase an einen Eiweisskörper gebunden ist, so zeigt dieser Eiweisskörper eben dadurch, dass er ausser den gewöhnlichen Eiweissreactionen noch die Eigenschaft aufweist, Stärke zu lösen, dass er eben von den anderen, dazu nicht fähigen Eiweisssubstanzen sich auch materiell irgendwie unterscheidet; er ist deshalb auch materiell ein chemisches Individuum, geradeso wie wir zwei Zucker von sonst gleicher Natur, die eine durchaus verschiedene Drehung der Polarisationsebene zeigen, eben auch als chemische Individua von einander trennen, obwohl sie sich nur durch eine rein physikalische Eigenschaft unterscheiden. Gerade, wie wir annehmen, dass solche Unterschiede durch Atomgruppirungen eigener Art bedingt sind, so müssen wir auch die Fähigkeiten der Fermente auf bestimmte atomistische, also vom empirischen Standpunkt aus materielle Verhältnisse zurückführen. Dafür spricht vor Allem die Specifität der Fermentwirkungen. Gerade wie wir auch auf specifische Reactionen die chemische

Individualität der Schwefelsäure basiren, so haben wir auch bei den Fermenten ein Recht, aus den specifischen Reactionen auf specifische materielle Substrate zu schliessen. Ob diese nun ganz einheitlich sind, ob es nur eine chemisch einheitliche Diastase etc. giebt, oder ob die stärkelösende Wirkung ein „Gruppenreagens" ist, so dass es ganze Reihen von Diastasen geben mag, ist für die Frage gleichgültig, im Uebrigen nicht unwahrscheinlich. Dass es sich ferner hier nicht um frei herumvagirende Energiemassen handelt, ergiebt sich empirisch daraus, dass, wie der Schall nur in seinem Substrat, der Luft, sich verbreitet, auch die Fermentwirkungen niemals über die räumlichen Grenzen des materiellen Bereiches hinaus sich erstrecken.

Für die Materialität der Fermente sprechen auch physiologische Erwägungen, so besonders, dass die Enzyme echte Secrete sind, die dann besonders gebildet werden, wenn der Organismus sie braucht (s. u.). Es ist sehr schwierig, sich diese Thatsache anders zurechtzulegen, als dass hier eben physiologische nothwendige Stoffe secernirt werden. Und warum geht die „Energie" der Hefeinvertase erst dann an das Wasser über, wenn man die Hefezelle tötet? Alle diese Fragen lassen sich von dem angeführten Standpunkt kaum beantworten, ebensowenig die Existenz von „Fermentimmunität" und „Antifermenten".

Am meisten wird immer von den Verfechtern dieser Anschauung der Vergleich mit dem Magneten herangezogen, dessen Magnetismus ihm ja stofflich kein specifisches Gepräge verleiht, sondern ihm nur als eine physikalische Eigenschaft anhaftet.

Indessen liegt doch hier die Sache anders als bei den Fermenten. Man kann durch geeignete Mittel dem Magneten seine Eigenschaft nehmen und sie ihm wiedergeben. Aber wo kann man das bei irgend einem Ferment? Kein Mittel giebt es, um einem einmal inactiv gewordenen fermentirenden Material, wenn das Ferment wirklich zerstört ist, seine specifische Wirksamkeit wiederzugeben. Ausserdem erstreckt doch der Magnetismus seinen Einfluss nur auf intacte Molecüle, nicht aber hat er die Fähigkeit in den Aufbau der einzelnen Molecüle selbst einzugreifen und Verschiebungen der Atome vorzunehmen. Wir müssen also bei der Betrachtung der Fermentwirkungen uns stets an die nächstverwandte, die chemische Energie halten. Und wie uns bei dieser die specifische Wirkung Grund giebt zu einer materiellen Individualisirung, so ist es auch bei den Fermenten. Wir haben allen Grund anzunehmen, dass die specifische Wirksamkeit zurückzuführen ist auf specifische materielle Construction, auf eine eigenartige Gruppirung der Atome. Wir werden auf diese Frage später ausführlicher eingehen.

Wir sehen also, wie schief die ganze Fragestellung nach der Materialität der Fermente ist: Erkenntnisstheoretisch ist sie unhaltbar; aber auch rein empirisch führt sie uns nicht im geringsten weiter. Sie könnte höchstens das unerfreuliche Resultat haben, dass die lebhaften Bemühungen, die materiellen Substrate der Fermentwirkungen als chemische Individuen zu isoliren, von vornherein desavouirt würden.

Auf einem experimentell so unsicheren Terrain sollte man es auch aus praktischen Gründen möglichst vermeiden, eine Theorie aufzustellen, die nicht als heuristisches Princip weiterführen kann, wie es die rein energetische Theorie der Fermente thatsächlich nicht sein kann, die im Gegentheil von immer neuen Experimentaluntersuchungen geradezu abschrecken würde. Gestützt wird diese Anschauung nur dadurch, dass man eben noch kein Ferment in reinem Zustande kennt; es ist deshalb vor der Hand unmöglich, andere Erkennungsreactionen anzugeben, als eben ihre Wirkung, und dadurch wird es erklärlich, wenn man über der Wirkung das Substrat vergisst. Wir müssen indessen daran festhalten, dass die Fermente wirkliche chemische Stoffe, sei es von eiweissähnlicher oder anderer Natur sind. Bekannt sind sie uns allerdings noch in keinem Falle mit Sicherheit. Wir sehen uns genöthigt, das Thema: „Chemische Natur der Fermente“ noch mit vielen Fragezeichen zu versehen.

Von ihren Eigenschaften ist also auch nur wenig anzugeben. Sie sind löslich in Wasser und wässrigem Glycerin, sowie neutralen Salzlösungen, schwachen Alkalien und Säuren.

Durch Alkohol sind sie fällbar, aber nicht vollständig. Nach Dastre[1]) ist Trypsin in 40 %, Pancreasdiastase in 60 % Alkohol löslich. Speicheldiastase ist nach de Jager[2]) in Alkohol löslich (sogar in absolutem??), Pepsin nach Bardet.[3])

Ferner fallen sie meist mit aus, wenn man in ihrer Lösung Niederschläge hervorruft, wie z. B. phosphorsauren Kalk oder Eiweissfällungen. Einige Farbenreactionen, die sie geben sollen, z. B. die verschiedene Färbung mit Orcin und Salzsäure (Wiesner[4]) u. A.), sowie ihre Fähigkeit Guajactinctur zu bläuen, sind wahrscheinlich nicht Reactionen der Fermente selbst, sondern von Beimengungen bedingt.

Im Uebrigen hat man die Beeinflussung der Fermente durch verschiedene physikalische und chemische Agentien bisher nur an der Veränderung ihrer Wirksamkeit studiren können.

---

1) Dastre, C. R. soc. biol. 1895. S. 414. Arch. d. phys. (5) VIII. 120 (1896) (Litt.).

2) de Jager, Virch. Arch. 121. 183. (1890).

3) Bardet, Bull. d. la soc. d. Thérap. XVIII. 13 (1887) cit. n. Dastre l. c.

4) Wiesner, Sitzb. Wiener Acad. 92. 1 (s. a. b. Diastase und Emulsin).

Dialysirbarkeit der Enzyme: Aus den verschiedenen Untersuchungen geht hervor, dass eine geringe Diffusibilität wohl den Fermenten zugeschrieben werden muss.

Sie ist bei den einzelnen indessen verschieden gross, hängt ferner auch von der Art der Membran ab. Nach Fermi und Pernossi[1]) z. B. geht Pepsin durch Papier de la Rue, nicht aber durch gutes Pergament.

Nach denselben Autoren passiren die meisten Fermente durch Porzellanfilter.

Von dem pflanzlichen Labferment giebt Lea[2]) an, dass es ebenso wie thierisches durch Caolinfilter zurückgehalten wird. Chodjujew[3]) kommt zu dem Resultat, dass die Fermente zwar dialysirfähig sind, aber ausserordentlich langsam. Auch diese Eigenschaft, am bequemsten die Filtration durch Porzellanfilter, ist ein Mittel' um enzymatische Wirkungen von vitalen Kräften lebender Zellen zu trennen und wird neben der sicherern Vergiftung der Zellen (s. u.) vielfach zu diesem Zwecke benutzt.

---

1) Fermi und Pernossi, Z. f. Hyg. XVIII. 106 (1894).

2) Lea, Proceed. Royal Soc. Lond. 36. 55 (Nov. 1883).

3) Chodjujew, Arch. d. phys. 1898. 241 (dort Litteraturübersicht).

Viertes Capitel.

Beeinflussung der Fermentwirkung durch äussere Factoren.

Die Fermente werden durch physikalische und chemische Agentien in verschiedenster Weise beeinflusst. Die ungeformten Fermente verhalten sich gegen diese Beeinflussungen sehr verschieden; sie sind mehr oder minder resistant; am empfindlichsten gegen alle Einwirkungen ist die Buchner'sche Zymase (s. d.). Die geformten Fermente werden mit dem lebenden Protoplasma ihrer Mutterzelle sehr viel leichter geschädigt. Dastre[1]) hat für diese Einwirkungen ein Schema aufgestellt. Er unterscheidet vier Gruppen:

1. die zymoplastischen Momente[2]) sind diejenigen, die die unwirksamen Zymogene (Profermente) in die activen Fermente überführen; als solche wirken namentlich verdünnte Säuren.

2. Zymoexcitirende oder zymodynamogene (Arthus) Agentien, die die Wirkung befördern, resp. beschleunigen; als solche fungiren hauptsächlich die Erwärmung, ferner verdünnte Säuren, gewisse Neutralsalze; mitunter auch verdünnte Alkalien (Trypsin) und Kohlensäure (Lab).

3. Die „Zymofrénateurs" von Arthus: Sie beeinflussen die Fermentwirkung in schädlichem Sinne. Wenn sie die Fermentwirkung gänzlich aufheben, ohne die Fermente zu vernichten, so nennt sie Arthus Zyminhibiteurs. Es ist besonders die Kälte, Alkalien, sowie alle chemischen Mittel, wenn sie eine gewisse Concentration erreichen.

4. Die Zymolyse, die eine völlige Zerstörung des Fermentes bedingt: Hierher gehört hauptsächlich hohe Temperatur der Lösung, starke Säuren etc.

---

1) Dastre, C. R. soc. biol. 1897. 469.

2) Diese Bezeichnung ist der „agent zymogénique" von Arthus (Nature des Enzymes. 1896. S. 13) entschieden vorzuziehen.

Einwirkung physikalischer Agentien auf die Enzyme: Eine der hervorstechendsten Eigenschaften aller Enzyme, die in theoretischer Hinsicht von grösstem Interesse ist, ist ihre Empfindlichkeit gegen höhere Temperaturen, wenn sie gelöst sind. Alle Enzyme zeigen ein Optimum ihrer Wirkung zwischen 35 und 45°, darunter fällt ihre Activität schnell, um bei 0° sehr gering zu sein, bei höheren Temperaturen tritt eine immer rapidere Zerstörung des Fermentes ein. Während man aber trockene Enzyme stark, manche bis weit über 100° erhitzen kann, ohne dass ihre Kraft darunter leidet (Hüfner,[1]) Salkowski),[2]) werden sie ausnahmslos in wässeriger Lösung bei ca. 70° zerstört. In anderen Lösungen, besonders in Amylalkohol sollen sie beständiger sein.[3]) Nach Pavy[4]) erträgt Pancreas- und Leberdiastase das Sieden in absolutem Alkohol. Die einzelnen „Tötungs"temperaturen sind innerhalb ziemlich enger Grenzen für die verschiedenen Fermente schwankend, die Angaben darüber widersprechen sich vielfach, besonders da diese Temperatur ausserordentlich weitgehend von Beimengungen beeinflusst wird. Die Wirkung ist keine plötzliche, sondern nach allmählicher Abschwächung tritt schliesslich der „Tod" ein. Allgemein ist die Tötungstemperatur höher, wenn das Ferment in der Mischung mit seinem Substrat erhitzt wird, also z. B. Diastase mit Stärkekleister etc.

Sehr tiefe Temperaturen wirken nach d'Arsonval[5]) bis — 50° auf die Enzyme nicht ein; bei — 100° wird Invertase unwirksam, Hefe dagegen nicht.

Das Sonnenlicht zerstört gleichfalls die Enzyme in wässeriger Lösung schnell, nicht aber in trockenem Zustande, oder in indifferenten Lösungsmitteln.[3])

Die Einwirkung des Sonnenlichts auf Diastase hat ferner Green[6]) genau untersucht (s. b. Diastase).

Einwirkung von Säuren und Basen: Ueber diese Frage liegt eine gewaltige Litteratur vor, die in ihren Hauptzügen bei der Besprechung der einzelnen Fermente abgehandelt werden wird.

Das Einzige, was ganz sicher festgestellt ist, ist die Zerstörung aller Fermente durch Mineralsäuren und Alkalien in starker Concentration.

---

1) Hüfner, J. pr. Ch. N. F. V. 372.
2) Salkowski, Virch. A. 70. 158.
3) Fermi und Pernossi, Ztschr. f. Hyg. XVIII. 83 (1894).
4) Pavy, Journ. of physiol. XXII. 391 (1898).
5) d'Arsonval, C. R. soc. biol. 44. 808 (1892).
6) Green, Philos. Transact. 188. 167 (1897).

Ferner scheint es sicher, dass sehr verdünnte Säuren alle Fermente zu energischerer Thätigkeit anregen.

Alkalien, selbst in beträchtlicher Verdünnung, scheinen nur für das Trypsin und die ihm ähnlichen Fermente dienlich zu sein; die anderen werden meist dadurch geschädigt.

Der Wirkungsgrad einzelner Säuren und der verschiedenen Concentrationen auf die einzelnen Fermente ist so schwankend, und die Angaben darüber so controvers, dass es unmöglich erscheint, allgemeine Schlüsse daraus zu ziehen. Im Allgemeinen scheinen die organischen Säuren weniger energisch zu wirken, als die Mineralsäuren. In Betreff der Kohlensäure sind die Angaben besonders widerspruchsvoll.[1])

Einwirkung von Neutralsalzen auf die Fermente: Derartige Untersuchungen sind in grosser Zahl ausgeführt[2]) worden, worüber bei den einzelnen Fermenten Näheres zu finden ist.

Herausgekommen ist bei all den fast unübersehbaren Einzeluntersuchungen herzlich wenig.

Die Salze scheinen viel weniger nach physikalisch-chemischen Gesetzen, also etwa abhängig von der Molecularconcentration, als vielmehr nach specifisch chemischen Gesichtspunkten zu wirken, nur so ist wenigstens die grosse Verschiedenheit verschiedener Salze auf dasselbe Ferment und desselben Salzes auf verschiedene Fermente bei gleicher Concentration zu erklären.

Ferner scheint auch die Concentration des der Fermentation unterliegenden Stoffes von Einfluss zu sein, worauf u. A. die Beobachtungen von Kübel[3]) hindeuten, der fand, dass der Einfluss des Kochsalzes auf die Speicheldiastase mit der Concentration des Stärkekleisters schwankt.

Im Allgemeinen wirken verdünnte Salzlösungen fördernd auf die fermentativen Processe; bei einer gewissen Concentration beginnt jedoch stets ein hemmender Einfluss, der schliesslich zu einer völligen Aufhebung führt.

Auch der Einfluss der Schwermetallsalze ist vielfach untersucht und ebenfalls sehr schwankend gefunden worden.

Eine hindernde Wirkung auf sämmtliche untersuchten Enzyme schreibt Dumas[4]) dem Borax zu, nur die Alkoholgährung soll er nicht hindern (Schützenberger).[5])

---

1) s. dar. bes. Schierbeck, Scand. A. f. Phys. III. 344.
2) Die umfassendste wohl von Fermi u. Pernossi, Z. f. Hyg. XVIII. 96 (1894).
3) Kübel, Pflüg. A. 76. 276.
4) Dumas, Compt. rend. 75. 295.
5) Schützenberger, l. c. S. 246

Man hat verschiedentlich versucht, nach den Gesetzen dieser Beeinflussung zu forschen. Eine Idee von Nasse,[1]) dass die Salze nach Maassgabe ihrer wasserentziehenden Kraft, die sich ausdrückt in der verminderten Dampfspannung, auf die Fermente schädlich wirken, fand er selbst mit den Thatsachen nicht vereinbar.

Von anderer Seite wurde verschiedentlich die Vermuthung ausgesprochen, dass die Fermente wirkliche, mehr oder minder feste Verbindungen mit den Salzen eingehen dürften, doch sind auch für diese naheliegende Ansicht Beweise nicht erbracht.

Einfluss von Protoplasmagiften: Während die Lebensthätigkeit der Mikroorganismen durch mannigfache Gifte gelähmt wird, sind die Enzyme dagegen relativ unempfindlich. Es war also ein grosser Fortschritt, als man lernte, bei Fermentversuchen die Thätigkeit von Mikroben (besonders der Fäulniss), auszuschalten, um die reine Enzymwirkung zu erkennen.

Dazu dienen hauptsächlich Alkohol, Aether, aetherische Oele (Bouchardat),[2]) Salicylsäure (Kolbe),[3]) Thymol (Lewin),[4]) Chloroform (Müntz),[5]) (Salkowski),[6]) Toluol (E. Fischer),[7]) Fluornatrium (Tappeiner,[8]) Arthus und Huber),[9]) Calomel (Wassilieff),[10]) Sublimat,[11]) Natriumazoimid (Loew).[12])

Doch liegen zahlreiche Beobachtungen vor, dass diese Gifte die Enzyme nicht ganz unbeeinflusst lassen, sondern ihre Wirksamkeit, wenn auch nicht sehr intensiv, schädlich beeinflussen;[13]) dies gilt besonders von der Salicylsäure,[14]) dem Phenol[14]) (Plugge),[15]) dem Thymol[16]) und dem Chloroform,[17]) sowie dem Fluornatrium (Pavy),[18]) während das Toluol am indifferentesten zu sein scheint.

1) Nasse, Pflüg. A. XI. 145 (1875).
2) Bouchardat, Ann. d. chim. et phys. (3) XIV. 61.
3) Kolbe u. s. Schüler, J. pr. Ch. N. F. X. XI. XII.
4) Lewin, C. med. Wiss. 1875. 324.
5) Müntz, C. R. 80. 1250 (1875).
6) Salkowski, D. med. Woch. 1888. 16.
7) E. Fischer u. a. Z. phys. Ch. 26. S. 75 (1898).
8) Tappeiner, A. f. exp. Path. 27. 108 (1890).
9) Arthus und Huber. A. de physiol. [5] IV. 651 (1892).
10) Wassilieff, Z. phys. Ch. VI. 112 (1882).
11) Mrotschkowsky, Unorganis. Ferm. Diss. Petersb. 1891. cit. n. Kionka, D. med. Woch. 1896. 612. s. a. Fermi, Arch. f. Hyg. XII. 238.
12) Loew, Chem. B. 24. 2947 (1891).
13) Treyer, Arch. d. phys. 1898. 672.
14) Müller, Journ. pr. Ch. X. (Neue Folge) 444.
15) Plugge, Pflüg. Arch. V. 549. 16) u. A. Schlesinger, Virch. A. 125. 340.
17) u. A. Pugliese, Pflüg. A. 69. 115 (1898).
18) Pavy, Journ. of physiol. XXII. 391 (1898).

Alkohol, den man früher häufig zur Fernhaltung unerwünschter Mikroben angewendet hatte, wirkt meist auch auf die Enzyme schädlich, am wenigsten, wie es scheint, auf Pepsin, (Buchner),[1] energischer auf Diastase (Watson)[2] und Invertase (A. Mayer).[3] Maltase zerstört er sehr schnell (E. Fischer),[4] doch nur bei Gegenwart von Wasser (Hill).[5] Blausäure hemmt die Fermentthätigkeit wenig oder gar nicht, vernichtet aber die Fähigkeit der Zerlegung von Wasserstoffsuperoxyd (Fiechter),[6] ähnlich Cyanamid, Acetonitril und Hydroxylamin (Jacobson).[7] Doch genügt ein einfacher Luftstrom, um die Blausäure zu verjagen und die Fähigkeit zu restituiren. Es scheint hier eine Art von lockerer Verbindung vorhanden zu sein. Dass Formaldehyd die Fermente unwirksam macht und dass Loew daraus Schlüsse auf vorhandene Amidogruppen zieht, haben wir bereits erwähnt.

Alkaloïde wirken in der verschiedensten Weise, bald fördernd, bald hemmend (Nasse,[8] Schultz-Schultzenstein)[9] etc.

Gerbsäure hemmt die Wirkung (Schultz-Schultzenstein).[9] Phenol soll nach Zapolski[10] Pepsin, aber nicht Diastase störend beeinflussen, was auch Detmer[11] für die Diastase bestätigt.

Nasse und seine Schüler haben die gleichzeitige Beeinflussung entgegengesetzt wirkender Factoren auf Fermente geprüft. Sie fanden dabei einen echten Antagonismus: Wenn man ein Enzym gleichzeitig mit einem fördernden und einem hemmenden Mittel versetzt, so ist ceteris paribus die schliessliche Endwirkung gleich dem arithmetischen Mittel beider Wirkungen.

Solche Versuche hat z. B. Baum[12] an der Invertase angestellt. Chlorkalium wirkt in bestimmbarer Weise fördernd, Chlorammonium hindernd. Aehnliche Antagonisten sind Chinin und Curare. Die gleichzeitige Beeinflussung des Fermentes geschieht dann in angegebener Weise. Nasse[13]) hat diese Versuche im Hinblick auf die Frage nach

1) Buchner, Arch. f. klin. Med. 29. 537.
2) Watson, Journ. chem. soc. 35. 539 (1879).
3) A. Mayer, Enzymologie. Heidelb. 1882. S. 13.
4) E. Fischer, Z. phys. Ch. 26. 74 (1898).
5) Hill, Journ. of the Chemic. Soc. 73. 634 (1898).
6) Fiechter, Wirk. d. Blaus. auf Fermente. Diss. Basel 1875.
7) Jacobson, Z. phys. Ch. XVI. 367 (1892).
8) Nasse, Pflüg. A. XI. 159 (1875).
9) Schultz-Schultzenstein, Z. phys. Ch. XVIII. 131 (1894).
10) *Zapolski, Hoppe-Seyler's Medic. chem. Unters. IV.
11) Detmer, Z. phys. Ch. VII. 1 (1882).
12) Baum, „Antagonismus“. Inaug.-Diss. Rostock 1892.
13) Nasse, Maly's Jb. 1892. 584.

der Beeinflussung der lebenden Zelle durch Gifte und Gegengifte verwerthet.

Einwirkung der von den Fermenten erzeugten Abbauproducte auf ihre weitere Thätigkeit: Im Allgemeinen scheinen die Fermente von den durch sie erzeugten Spaltproducten in ihrer Activität nicht wesentlich gehemmt zu werden.

Eine Ausnahme muss diese Regel natürlich dann erleiden, wenn die sehr empfindlichen Fermente in engem Connex mit der sie erzeugenden Zelle durch bei ihrer Wirkung gebildete Gifte zerstört werden. So wird die Hefewirkung auf Traubenzucker bei einer gewissen Concentration des erzeugten Alkohols schliesslich erlahmen.

Sind die erzeugten Stoffe Säuren, so ist die Hemmung der Enzymwirkung noch leichter zu verstehen, wie dies bei der Essiggährung und der Milchsäuregährung naturgemäss der Fall ist, wenn auch gerade bei der Essiggährung die Anpassung eine grosse Gewöhnung an die Säure bedingt.

Dagegen wird z. B. die Diastasewirkung durch den aufgehäuften Zucker nicht gehemmt.[1])

Die Peptone scheinen im Gegentheil nicht nur auf die proteolytischen Fermente, sondern auch auf andere fördernd zu wirken;[2]) im Gegensatz zu Kühne, der für die Peptone einen hemmenden Einfluss angenommen hat.

Dagegen hat Tamman[3]) für das Emulsin einen exquisit schädigenden Einfluss der Spaltproducte nachgewiesen; und zwar sowohl dadurch, dass bei künstlichem Zusatz die Wirkung gehemmt wurde, als auch dadurch, dass sie nach Entfernung der gebildeten Producte lebhafter wurde. Fügte er einem Amygdalin-Emulsingemisch eins der Spaltungsproducte bei, so wurde die Spaltung behindert, und zwar am energischesten durch die Blausäure, weniger durch Benzaldehyd, am wenigstens durch Traubenzucker. Aber auch dieser wirkte noch energischer als Aether und Alkohol. Leider hat er keine Versuche mit dem Benzaldehyd ähnlichen, aber nicht specifischen Spaltproducten gemacht; es ist leicht möglich, dass er z. B. mit Nitrobenzaldehyd oder dergleichen ähnliche Hemmungen erzielt hätte. Alkohol und Aether waren doch jedenfalls keine geeigneten Vergleichsobjecte. Aehnliche Resultate erhielt er für Salicin. Eine hindernde Wirkung der Glucose bei der Maltasewirkung fand Hill;[4]) dasselbe

---

1) s. dazu Wortmann, Z. ph. Ch. VI. 324; vgl. jedoch bei Diastase.

2) u. a. Chittenden und Ely, Journ. of physiol. III. 327.

3) Tamman, Z. ph. Ch. XVI. 291 (1892).

4) Hill, Journ. of the Chem. Soc. 73. 634 (1898).

für den Invertzucker bei der Wirkung der Invertase Müller-Thurgau.[1])

Einwirkung anderer chemischer Agentien: Dass comprimirter Sauerstoff die Lebensthätigkeit der Mikroorganismen schädigt, ohne die Enzyme zu tangiren, hat Paul Bert[2]) angegeben.

Später hat man wiederholt die Einwirkung von Gasen auf Fermente untersucht; Nasse[3]) fand schädigenden Einfluss von Sauerstoff und Kohlenoxyd auf Invertase. Fermi und Pernossi[4]) konnten einen schädlichen Einfluss von Schwefelwasserstoff nur auf die gelatinelösende Wirkung einiger Bacterien, nicht aber auf die untersuchten Enzyme (Pepsin, Trypsin, Diastase, Emulsin) constatiren.

Eine merkwürdige, aber von verschiedenen Seiten bekräftigte Thatsache ist die, dass normales Blutserum eine je nach den Umständen mehr oder minder stark hemmende Einwirkung auf die Thätigkeit der Fermente hat (Pugliese und Coggi,[5]) Hahn,[6]) Camus und Gley,[7]) Röden).[8])

Gegenseitige Beeinflussung der Fermente: Ueber diese wichtige Frage liegt nur ein spärliches, sich theilweise widersprechendes Material vor.

Sichergestellt ist nur das Eine: Dass Pepsin fast alle anderen ungeformten Fermente, z. B. Diastase, besonders leicht aber Trypsin unwirksam macht, umgekehrt degegen Trypsin auf Pepsin gar nicht einwirkt. Trypsin zerstört dagegen Buchner's Zymase; ebenso thun dies die proteolytischen Fermente der Bacterien und der Hefe selbst. Andererseits ist Pepsin an sich wirkungslos auf die Milchsäuregährung. Es ist in allen diesen Fällen schwer, die deletäre Wirkung der Salzsäure an sich, ohne die das Pepsin nicht wirkt, bei diesen Processen in Abrechnung zu bringen, so dass man aus der Zerstörung von Enzymen durch Pepsin, selbst wenn sie nicht wie bei der Diastase bestritten wird, einen Rückschluss auf die eiweissähnliche Natur der Enzyme selbst nicht machen darf.

---

1) Müller-Thurgau, Thiel's Landwirthsch. Jahrb. 1885. 795.
2) Bert, C. R. 80. 1579.
3) Nasse, Pflüg. Arch. XV. 471.
4) Fermi und Pernossi, Zeitschr. f. Hyg. XVIII. 92. 1894.
5) Pugliese und Coggi, Maly's Jb. 1897. 832.
6) Hahn, Berl. Klin. Woch. 1897. 499.
7) Camus und Gley, C. R. soc. biol. 49. 825 (1897).
8) Röden, Maly's Jb. XVII. 160 (1887).

Verhalten der Fermente gegen Wasserstoffsuperoxyd: Eine Consequenz der Anschauung, dass die Wirkungen der Fermente ganz eng mit denen der einfachen anorganischen Katalysatoren verwandt seien, hat auch zu der Ueberzeugung geführt, dass die allen wirksamen Fermentlösungen anhaftende Eigenschaft, Wasserstoffsuperoxyd zu zerlegen, in diesem Sinne als typische, katalytische Reaction aller Fermente betrachtet wurde und einen integrirenden Theil ihrer Wirksamkeit darstellen sollte. Dies wurde besonders von Schönbein[1]) betont; Nasse[2]) prüfte dann die Beeinflussung dieser Fähigkeit durch fremde Zusätze, wohl in der Meinung, damit die Fermentwirkung selbst auf indirectem Wege zu untersuchen.

Man erkennt diese Zerlegung des Wasserstoffsuperoxyds durch die Bläuung von alkoholischer Guajaclösung, die durch den frei werdenden Sauerstoff eintritt. Wir werden uns mit dieser Guajacreaction noch mehrfach beschäftigen.

Jacobson[3]) ist dieser bis dahin allgemein acceptirten Anschauung durch sorgfältige Versuche zu Leibe gegangen und konnte constatiren, dass eine vollkommene Parallelität zwischen echter Fermentwirkung und Zerlegung von Wasserstoffsuperoxyd im angegebenen Sinne nicht besteht. Er konnte vielmehr auf drei Wegen eine Trennung der katalytischen Kraft von der fermentativen bewirken:

Emulsin verliert bei 72°, Pancreasinfus bei 62° völlig die katalytische Kraft, während die fermentative wenigstens theilweise erhalten bleibt.

Aehnliche Differenzen zeigten sich beim Erhitzen der trockenen Fermente auf 130, resp. 120°.

Durch Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd konnte die katalytische Kraft erschöpft werden, ohne die fermentative zu vernichten.

Als dritter Weg erwies sich das Aussalzen der Fermente mit Natriumsulfat, das gleichfalls zum Verlust der katalytischen, nicht aber der specifisch spaltenden führte.

Es zeigten sich indessen noch weitere Differenzen. Während bekanntlich geringe Säuremengen die Fermentwirkung befördern, Alkalien sie hemmen, gilt für die katalytische Fähigkeit das Umgekehrte; selbst ganz geringe Salzsäuremengen verzögern und vernichten sie, während sehr schwaches Alkali sie zunächst befördert, um dann freilich bei stärkerer Concentration auch seinerseits hemmend zu wirken. Salze wirken fast durchweg verzögernd auf die Sauerstoffentbindung, doch

1) Schönbein, J. pr. Ch. 89. 334.
2) Nasse, Pflüg. A. XI. 159 (1875).
3) Jacobson, Z. ph. Ch. XVI. 340 (1892).

in sehr wechselnder Intensität. Beim Pancreasferment befördert $K_2 SO_4$ in 4%iger Lösung die Sauerstoffabspaltung, andere Sulfate wirken schwächer. Auch Natriumpyrophosphat und einige wenige andere Salze liessen eine Beschleunigung erkennen. Sehr energisch hemmend wirkt Rhodankalium.

Am characteristischesten ist die Wirkung von Blausäure, die die Zersetzung von Wasserstoffsuperoxyd ganz oder zum grössten Theil aufhebt, ohne die Fermentwirkung zu tangiren. Aehnlich wirken Cyanamid, Acetonitril und Hydroxylamin.

Es ergiebt sich daraus, dass die Zersetzung des Wasserstoffsuperoxyds nicht eine untrennbar zugeordnete Function der Fermente ist, sondern sich von ihrer fermentativen Thätigkeit scheiden lässt. Ob hier Beimengungen vorliegen, oder ob die materiellen Substrate der Fermentationen selbst Atomgruppen besitzen, an die diese Fähigkeit gebunden ist, lässt sich nicht sagen.

In meiner Zeit hat Grüss[1]) trotzdem für die Diastase der höheren Pflanzen auch „oxydasische" Eigenschaften in Anspruch genommen, d. h. die Guajacreaction mit $H_2 O_2$ auf die Diastase selbst zurückführen wollen.

Sehr interessante Analogien zwischen dieser speciellen katalytischen Wirkung der Fermente und der durch colloidales Platin in wässeriger oder schwach saurer Lösung hervorgerufenen Zerlegung des Wasserstoffsuperoxyds haben Bredig und Müller von Berneck[2]) aufgefunden. Auch bei dieser wirken sehr geringe Mengen (1 gr-Atom Platin in mehreren Millionen Litern Wasser) sehr energisch auf sehr viel grössere Mengen Wasserstoffsuperoxyd.

Auch für den Einfluss der Temperatur auf die Geschwindigkeit der Reaction; ferner die Schwächung durch gewisse Salze etc. wurden weitgehende Analogien mit der katalytischen Kraft der Fermente nachgewiesen. Besonders frappirend ist indessen die Thatsache, dass auch der eminent schädigende Einfluss der Blausäure, sowie des Schwefelwasserstoffs und Sublimats bei dem colloidalen Platin wiedergefunden wurde, indem schon durch Zusatz von Blausäure im Verhältniss von 3 : 1000000 die katalytische Kraft auf die Hälfte sank.

Ebenso indessen wie wir gesehen haben, dass sich die katalytische Kraft von der specifisch fermentativen scheiden lässt, so werden wir im folgenden Capitel zu zeigen Gelegenheit haben, dass dementsprechend auch die physikalisch-chemischen Untersuchungen der Ferment-

1) Grüss, Ber. d. botan. Ges. 1898.

2) *Bredig und Müller von Berneck, Zeitschr. f. physikal. Ch. 31. 258 (1899). Autoreferat von Bredig in der Nat. Rdsch. 1900.

wirkung zu dem Resultat geführt haben, dass sie nicht den Gesetzen der einfachen Katalyse folgen, sondern charakteristische Unterschiede aufweisen. So ist es also nicht ganz einwandsfrei, wenn Bredig und Müller ihr colloidales Platin als anorganisches Ferment bezeichnen, was schon aus dem Grunde zu beanstanden ist, weil wir als Fermente nach der Definition Producte lebender Zellen bezeichnen. Aber auch in Bezug auf die Wirkung müssen wir die katalytische Kraft, die nach Ostwald ausschliesslich eine Beschleunigung einfacher Reactionen darstellt, von der specifischen Fermentwirkung trennen.

Fünftes Capitel.

Wirkungsweise der Fermente.

Wie wir bereits kurz angedeutet haben, kann man die chemischen Wirkungen der Fermente in zwei grosse Gruppen theilen.

Die rein hydrolytischen Spaltungen vollziehen sich in der Art, dass ein complicirter gebautes Molecül unter Aufnahme der Elemente des Wassers in einfachere Spaltproducte zerfällt. Diese Spaltungen vollziehen sich ganz analog denen, die man durch Hydrolyse mittelst Säuren, resp. Alkalien erhält und Hoppe-Seyler[1]) hat danach die hydrolytischen Fermentwirkungen eingetheilt.

Die der Säurespaltung analogen hydrolytischen Fermentationen sind folgende:

A. Der Abbau der Kohlehydrate:

1) Zerlegung der Stärke in Dextrine und Maltose durch die diastatischen Fermente.

2) Die nicht so genau erschlossene Aufspaltung anderer höherer Kohlehydrate: der Cellulose durch die Cytase, des Inulins durch die Inulinase, des Mannans und Galactans durch die Seminase, des Carubins durch die Carubinase, der Pectine durch die Pectinase.

3) Die Spaltung von Maltose in zwei Molecüle d-Glucose durch die Maltase.

4) Des Rohrzuckers in ein Molecül d-Glucose und ein Molecül d-Fructose durch die Invertase.

5) Der Trehalose, der Melibiose und Lactose durch noch wenig untersuchte Fermente: Trehalase, Melibiase und Lactase.

B. Die Spaltung der Glucoside durch besondere Enzyme, wobei ein Spaltproduct d-Glucose ist.

1) Hoppe-Seyler, Pflüg. A. XII. 1.

C. Die Spaltung des Harnstoffs in Ammoniumcarbonat durch die Urase.

D. Der Abbau der Eiweissstoffe:

1) Durch Pepsin entstehen noch hochmoleculare Körper, Albumosen und Peptone, wie sie ähnlich durch Einwirkung verdünnter Säuren auf die Proteide entstehen.

2) Durch Trypsin vollzieht sich die Spaltung analog der durch concentrirte Säuren: es entstehen krystalloide, relativ einfache Körper, hauptsächlich Ammoniak, Amidosäuren und Diamidosäuren.

3) Durch das Labferment vollzieht sich eine noch nicht genau erforschte, wahrscheinlich aber auch hydrolytische Spaltung des Caseïns zu einem coagulirten Eiweissstoff, dem Paracaseïn, ebenso vielleicht auch beim Fibrinferment[1]) und der Gerinnung der Pectinstoffe durch die Pectase. Bei beiden ist es noch sehr zweifelhaft, ob hier eine Fermentwirkung vorliegt. Den Alkalispaltungen analoge Hydrolysen vollziehen

E. Die fettspaltenden Fermente, die Glycerinester in Fettsäuren und Glycerin spalten.

F. Das Milchsäureferment, das aus Zuckern Milchsäure erzeugt.

Schwieriger zu verfolgen ist die chemische Wirkung der oxydirenden Fermente.

Hier kann man ebenfalls zwei Gruppen unterscheiden:

I. Die Oxydasen, die den zur Oxydation ihres Substrates nöthigen Sauerstoff von aussen her entnehmen und zwar

A. Aus der atmosphärischen Luft. Dies geschieht

1) bei der Thätigkeit der echten Oxydasen, die als Sauerstoffüberträger, z. B. Salicylaldehyd zu Salicylsäure oxydiren.

2) bei der Oxydation des Aethylalkohols durch die Essigsäuregährung.

B. Durch Zersetzung von Wasserstoffsuperoxyd, dessen Sauerstoff zur Oxydation benutzt wird. Dies thun die sog. „indirecten Oxydasen".

II. Ganz abgesondert von allen anderen enzymatischen Processen steht das Enzym der alkoholischen Gährung, und es ist schwer, diesen Process, der im Wesentlichen nach der Formel

$$C_6H_{12}O_6 = 2C_2H_5OH + 2CO_2$$

verläuft, einfach unter die Oxydationen zu subsumiren. Es handelt

1) Das Fibrinferment habe ich aus besonderen Gründen nicht genauer besprochen.

sich vielmehr um einen Process, der ohne Zufuhr des Sauerstoffes von aussen her erfolgt, gewissermassen eine intramoleculare Oxydation, bei der sich unter Wärmeabgabe, also exothermal, ein neues Gleichgewicht in der Art herstellt, dass sich ein Theil des im Molecül enthaltenen Kohlenstoffes auf Kosten des anderen Theiles bis zur Sättigung oxydirt.

Mit diesem Vorbehalt können wir dann auch die Zymase als eine Oxydase, wenn auch ganz eigener Art, betrachten.

Auf diese Weise gelangen wir dann zu einem relativ einfachen Schema der Fermentwirkungen. Die chemischen Unterschiede, die man zwischen einfachen Spaltungen und Gährungen fundirt hat, um auch darin eine principielle Verschiedenheit der Enzyme von den geformten Fermenten zu finden, scheinen mir vom rein energetischen Standpunkt aus nicht so wichtig, um damit diese sonst unhaltbare Formulirung zu begründen. Man hat nämlich als specifischen Vorgang der Gährung hingestellt, dass dabei Bindungen zwischen Kohlenstoff und Kohlenstoff, Kohlenstoff und Wasserstoff etc. gelöst werden, während stets neue Kohlenstoff-Sauerstoffverbindungen entstehen müssten.

Besonders Hoppe-Seyler[1]) hat auf diese chemischen Umsetzungen grosse Aufmerksamkeit gelenkt und in seiner gewohnten scharfsinnigen Weise die Wanderungen der Sauerstoffatoms verfolgt und ihre Bedingungen untersucht.

Indessen glaube ich doch den Schwerpunkt darauf legen zu müssen, ob ein Vorgang mit Verbrauch von Energie, endothermal, einhergeht oder bei seiner Durchführung noch Energie abgiebt, exothermal ist; die näheren Bedingungen dieser Umsetzung sind natürlich an sich sehr wichtig und interessant zu verfolgen, aber ob das O-Atom mehr oder weniger wandert, ob grössere oder geringere Umsetzungen dabei stattfinden: ein Fermentvorgang kann nur exothermaler Natur sein, aber in diesem Rahmen brauchen wir tiefgreifende principielle Unterschiede zwischen mehr oder minder complicirten Spaltungen nicht zu machen. Andererseits finden solche O-Wanderungen im Sinne Hoppe-Seyler's natürlich auch bei Processen statt, deren Gesammtresultat endothermal ist, die also dem Stoffwechsel angehören, so dass wir sie nicht unter die Fermentprocesse rechnen dürfen.

Was nun die Art und Weise der fermentativen Spaltungsprocesse betrifft, so haben wir uns die Fermente vorzustellen als Kräfte, die mit der Fähigkeit begabt sind, einem labilen Atomsystem einen Stoss zu ertheilen, der es an einer Stelle erschüttert und zum Zerfall

1) Hoppe-Seyler, Pflüg. A. XII. S. 1.

bringt, wodurch bewirkt wird, dass dieser Zerfall sich durch das ganze Substrat fortpflanzt, bis ein neuer Zustand eines stabileren Gleichgewichts sich hergestellt hat. Es ist durchaus nicht von der Hand zu weisen, sich dazu der Naegeli'schen Ansicht zu bedienen, dass schon bestehende Atomschwingungen durch die, wenn wir es uns grob mechanisch vorstellen wollen, in derselben Richtung schwingenden Kräfte der Fermente so verstärkt werden, dass sie über die zulässige Elongation hinausgehen und dadurch einen Einsturz des Molecüls bedingen. Doch muss man dabei nicht ausser Acht lassen, dass diese „Erklärung" eben nur ein, allerdings sehr anschauliches Bild von dem Wesen des Processes giebt, den man mit einem bequemen Sammelwort als „katalytische" oder „Contactwirkung" bezeichnet. Solche katalytischen Processe sind nicht nur die Fermentationen, sondern auch zahlreiche Vorgänge der anorganischen Natur. Man hat nun aus sehr naheliegenden Gründen häufig die Wirkungen der Enzyme völlig denen der mineralischen Contactsubstanzen gleichgestellt, wie z. B. der oxydirenden Wirkung feinverteilten Platins oder der hydrolytischen Wirkung sehr verdünnter Säuren.

Mit einer Erklärung der anorganischen Contactwirkung hoffte man dann auch den Schlüssel zum Verständniss der Fermentvorgänge zu finden. Namentlich Hüfner[1]) hat eine sehr geistvolle Theorie der Contactwirkung aufgestellt.

Hüfner construirt zunächst die anziehenden Kräfte zwischen zwei zweiatomigen Molecülen, von denen jedes Atom nicht nur das andere Atom desselben Molecüls, sondern auch jedes der Atome des anderen Molecüls anzieht und constatirt, dass solange die intramolecularen Anziehungskräfte die Anziehungen der fremden Atome überwiegen, die Molecüle intact bleiben. Bei einer gewissen Verteilung der Kräftepaare kann indessen der Fall eintreten, dass ein Molecül durch die Einwirkung der Atome des anderen zersplittert, während dieses selbst intact bleibt. Aehnliche Constructionen führt er nun auch für den Fall durch, dass sich drei Molecüle gegenseitig beeinflussen. Auch dann ist ein Fall möglich, wo die Kräfte so verteilt sind, dass von den drei Molecülen zwei zerfallen, während das dritte intact bleibt.

Weiterhin verfolgt er den Fall der Zersetzung von Wasserstoffsuperoxyd durch Platinmohr.

Die Wasserstoff- und Sauerstoffatome des ersteren Molecüls schwingen innerhalb desselben um gewisse Gleichgewichtslagen; nun wird aber jedes dieser Atome vom Platin angezogen, und zwar die Sauerstoffatome stärker als die Wasserstoffatome; es kann nun der

1) Hüfner, J. pr. Ch. N. F. X. 385 (1874). s. a. Loew, J. pr. Ch. XI. 372 (1875).

Fall eintreten, dass wenn gerade ein O-Atom sich besonders weit von seinem H-Atom entfernt hat, die Anziehung des Platins stärker wird, als der Zusammenhalt des Molecüls, so dass dieses zerfällt.

Die Ursache, warum solche durch Katalyse eingeleitete Processe nicht wieder rückgängig werden, und weshalb manche Umsetzungen ohne Beihilfe von Katalysatoren gar nicht beginnen können, sieht er in dem Beschränktsein der Wirksamkeit chemischer Anziehungen auf winzigste Entfernungen und der raschen Abnahme der chemischen Anziehung mit der Entfernung.

Weil die Molecüle der „Katalysatoren" bei diesen Vorgängen nicht zerrissen, sondern nur „gedehnt" werden, haben sie eben jene unbeschränkte Leistungsfähigkeit.

Ich kann hier auf die Details der sehr interessanten Arbeit nicht eingehen, die eine gewissermassen geometrisch gedachte Ausführung der molecularphysikalischen Theorie Naegeli's darstellt, obwohl sie ihr zeitlich vorangeht. Hüfner hat zwar die Fermente auch mit in den Kreis dieser Betrachtungen gezogen, jedoch nicht eine so directe Theorie der Fermente darauf basirt, wie Naegeli, sie im übrigen auch nur für die ungeformten angedeutet.

Versuche, die Fermentwirkung zu erklären, wurden weiterhin vielfach angestellt.

Bei seiner Annahme von freien Aldehydgruppen in den Enzymen (s. o.) berührt Loew[1]) auch die hydratisirende Wirkung von Aldehyden und möchte daraus einen Parallelismus mit der Fermentaction herleiten. Er erinnert daran, dass Cyan bei Berührung mit Acetaldehyd unter Wasseraufnahme in Oxamid übergeht. Diese Beobachtung rührt von Liebig[2]) her; doch fanden Schmitt und Glutz,[3]) dass diese Reaction auch bei Gegenwart von Salzsäure eintritt. Sie ist nicht näher untersucht; das sehr labile Cyan würde auch einer genaueren Untersuchung im angedeuteten Sinne erhebliche Schwierigkeiten bereiten.

Die modernen Theorien der electrolytischen Dissociation sind viel zu eingreifend für die Gestaltung unseres gesammten chemischen Denkens gewesen, als dass man nicht auch versucht hätte, mit ihrer Hilfe dem spröden Räthsel die schwache Seite abzugewinnen. Nun erscheint es mir zweifellos, dass hier wirklich der Weg ist, auf dem man, wenn überhaupt, schliesslich zum Ziele gelangen wird; die genaue Untersuchung der physikalisch-chemischen Vorgänge, der Aen-

---

1) Loew, Pflüg. A. 27. l. c.
2) Liebig s. Ann. 113. 246.
3) Schmitt und Glutz, Chem. B. I. 66 (1867).

derungen der Leitfähigkeit und in gegebenen Fällen vielleicht auch der des osmotischen Druckes und der Reactionsgeschwindigkeit, sowie der Ionisation überhaupt sind sicherlich nothwendige Vorarbeiten für eine Theorie der Fermente auf exacter Basis.

Noch ist hier freilich kaum der erste Schritt gethan. Doch verdient eine äusserst interessante Thatsache, deren Auffindung wir dem unermüdlichen Fermentforscher Nasse verdanken, hier in erster Linie Erwähnung.

Nasse[1]) ging von der sehr geistvollen Idee aus, dass ein Ferment im Momente seiner specifischen Wirksamkeit active freie Ionen besitzen müsse, die durch ihre kinetische Energie den Process einleiten sollen.

Er untersuchte demzufolge die Leitfähigkeit an Gemischen von frischem Ferment und Wasser und gekochtem Ferment und Wasser und fand keine grössere Leitfähigkeit des „rohen“ Ferments. Wenn er dagegen das Wasser — das auch durch die Lösung eines nicht specifischen Substrates, z. B. Rohrzucker bei Diastase vertreten werden kann — durch eine Lösung des dem Fermente specifischen Substrates, z. B. Stärke bei Diastase ersetzte, so zeigte das rohe Ferment eine grössere Leitfähigkeit gegenüber dem durch Kochen vernichteten. Es scheint hier also thatsächlich eine Dissociation des Ferments im Stadium der specifischen Wirksamkeit einzutreten. Leider sind diese höchst wichtigen Versuche niemals nachgeprüft und erweitert worden.

Namentlich der Umstand, dass die Fermentspaltungen den Säurespaltungen häufig sehr ähnlich verlaufen, war sehr verlockend für die Annahme, es hier mit wirklich analogen Processen zu thun zu haben. Man neigte auch vielfach zu der Vorstellung, dass die eigentliche Spaltung schliesslich auf eine echte Säurespaltung hinausliefe; dass die Fermente nur den Einfluss hätten, diese Säurespaltung zu beschleunigen und zu intensiviren; wie sie dies allerdings thun sollen, darüber kann man sich schwerlich eine Vorstellung machen. Und es sind auch im Allgemeinen Gründe vorhanden, welche auf einen Wesensunterschied zwischen anorganischen Contactwirkungen und echten Fermentwirkungen schliessen lassen.

Zunächst reicht die Analogie mit den Säurespaltungen nur bis zu den einfach hydrolytischen Spaltungen; die Oxydationen und besonders die alkoholische Fermentation liegen ausserhalb des Rahmens dieser Möglichkeit der Erklärung.

Indessen lassen sich bei wissenschaftlich exacter physikalisch-

1) Nasse, Maly's Jb. 1894. 718.

chemischer Untersuchung auch ganz tiefgreifende Unterschiede in dem Verlauf der einfach katalytischen Processe, wie z. B. der Hydrolyse durch verdünnte Säuren und der Wirkungsweise der Fermente constatiren.

Diese Unterschiede zeigen sich in der quantitativen Begrenzung der Processe, in der Geschwindigkeit, mit der sie verlaufen und der Beeinflussung, welche die Menge des Fermentes, die erzeugten Spaltproducte und andere physikalische Verhältnisse, namentlich der Concentrationsgrad und die Temperatur auf ihre Wirkung ausüben.

Alle diese Verhältnisse hat G. Tamman[1]) in einer umfangreichen Arbeit systematisch untersucht. Er hat sie so erschöpfend behandelt, dass mir kaum eine andere Möglichkeit bleibt, als mich bei der Erörterung dieses schwierigen Problems im Wesentlichen an seine Arbeit anzuschliessen.

Die Fermente wirken hydrolytisch. Von den oxydativen Fermenten, deren Wirksamkeit physikalisch-chemisch noch kaum untersucht ist, wollen wir bei dieser Betrachtung zunächst absehen. Hydrolytisch wirkt nun in geringem Maasse schon das Wasser an sich. Verstärkt wird diese Hydrolyse zunächst durch Erwärmen. So gelang es Munk[2]) Glucoside durch Erhitzen mit Wasser auf 150—160° zu spalten. Verstärkt wird sie weiterhin durch Säuren, und zwar wirken alle Säuren nur nach Maassgabe des hierbei allein bestimmenden Wasserstoffions (Arrhenius).[3]) Diese sind auch in nicht absolut reinem Wasser in geringer Menge vorhanden und bewirken hier die geringe Hydrolyse. Dadurch wird aber die Wirkung der Fermente nicht erklärt, denn diese sind keine Electrolyte, haben also keine freien H-Ionen. Die Fermente üben also ihre die Hydrolyse beschleunigende Kraft in anderer Weise wie die Säuren aus. Sie haben, wie wir später ausführlich zeigen werden, bestimmte Atomcomplexe, die zu gewissen Complexen des Substrats in Beziehung treten. Hierin liegt ein erster, wichtigster Unterschied, die Specificität der Fermente, begründet.

Indessen sind der Unterschiede mehr. Die Fermentreactionen sind unvollständig. Tamman weist an der Hand der Litteratur und durch eigene Versuche nach, dass das Ferment niemals den zu spaltenden Körper völlig zersetzt, sondern dass stets noch ein Rest unzerstört bleibt. Die einzige Ausnahme bildet das Labferment, das

1) Tamman, Z. f. physiol. Ch. XVI. 271 (1892).
2) Munk, Z. physikal. Ch. I. 357 (1877).
3) Arrhenius, Z. physikal. Ch. IV. 226 (1889).

stets das ganze Caseïn ausfällt und scheinbar, wenigstens bei höherer Temperatur die Invertase.

Jedoch ist diese Unvollständigkeit nicht etwa die Folge der Herstellung eines Gleichgewichtszustandes, wie er sich z. B. bei der Säurespaltung eines Esters ausbildet, wo neben der hydrolytischen Spaltung eine rückläufige Neubildung des Esters einhergeht. Die Fermentwirkung verläuft im Gegensatz dazu nur in einer Richtung, ohne synthetische Rückbildung, wie Tamman noch experimentell illustrirt, ganz entsprechend unserer oft wiederholten Anschauung, dass Fermente niemals synthetische, endothermale Processe auslösen können.

Dass dieser Process kein Gleichgewichtszustand im oben angegebenen Sinne sein kann, beweist die Thatsache, dass er durch Erhöhung der Temperatur wieder in Gang gesetzt werden kann, was bei der Verseifung von Säuren nicht der Fall ist, da hier der Gleichgewichtszustand von der Temperatur unabhängig ist.

Damit ist zugleich bewiesen, dass der Process nicht durch eine Zerstörung des Fermentes zur Ruhe kommt.

In directem Widerspruch mit allen bisherigen Untersuchungen stehen die Befunde von Hill,[1]) die dringend einer Bestätigung oder Widerlegung bedürfen. Hill will nämlich die ganz erstaunliche Thatsache constatirt haben, dass Glucose unter dem Einfluss von Maltase zum Theil in Maltose zurückverwandelt werden soll, und zwar in concentrirteren Lösungen, während bei Concentrationen unter 4 Proc. diese Reversion des Processes nicht eintritt. Gleich concentrirte Lösungen von Glucose und Maltose sollen unter der Einwirkung von Maltase bei demselben Gleichgewichtszustand von Glucose und Maltose sich einstellen. Man wird gut thun, diese Befunde, die im Wesentlichen aus der beobachteten, parallellaufenden Zunahme der optischen Drehung und Abnahme der Reductionskraft auf Neubildung von Maltose schliessen, mit grosser Skepsis aufzunehmen; ihre Bestätigung würde allerdings für die Wirkung der Maltase eine ganz exceptionelle Sonderstellung bedingen.

Die Zerstörung des Fermentes als Ursache für den Stillstand tritt indessen bei höherer Temperatur ein. Je höher die Temperatur über das Optimum steigt, desto schneller kommt der Process zum Endstadium und bei einer bestimmten Temperatur wird das Ferment so schnell unwirksam, dass fast nichts oder gar nichts von dem Substrat angegriffen wird. Und dieses Endstadium ist dann ein definitives, das Ferment ist zerstört; wie Tamman annimmt, zerspalten, und nichts stellt seine Wirksamkeit wieder her.

---

1) Hill, Journ. of the chem. soc. 73. 634 (1898).

Diese Zerstörung des Fermentes liegt nun aber bei niederen Temperaturen nicht vor, da es möglich ist, den Process durch äussere Factoren von neuem einzuleiten. Hier ist also nur eine Inactivirung des Fermentes eingetreten. Diese inactive Form lässt sich durch folgende Mittel wieder in die active überführen:

1. Durch Erhöhung der Temperatur. Wenn z. B. ein Amygdalin-Emulsingemisch bei 5^0 zu seinem Endstadium vorgeschritten ist, so bleibt es bei 5^0 constant. Erwärmt man es jetzt auf 40^0, so nimmt die Zersetzung des Amygdalins ihren Fortgang und macht erst bei dem Stadium wieder Halt, das eine von vornherein bei 40^0 angestellte Mischung ebenfalls erreicht hat. Das Endstadium ist also ceteris paribus von der schliesslichen Temperatur abhängig und es ist gleichgiltig, ob dieses Stadium sofort oder in einzelnen Etappen erreicht worden ist. Eine Ausnahme erleidet diese Regel naturgemäss, wenn bei den verwendeten Temperaturen das Ferment schon langsam zu zerfallen beginnt, dann wird bei einer etappenweisen Erreichung des Endstadiums weniger Substrat zersetzt sein, als bei der einphasigen Zersetzung. Dies gilt namentlich für die Invertase, deren Zerfall schon bei 20^0 beginnt.

Das zweite Mittel ist mitunter eine Verdünnung des Gemisches.

Das dritte ist der Zusatz neuer Substrate. Wenn man einem im Endstadium angelangten Amygdalin-Emulsingemisch nunmehr Salicin zusetzt, so beginnt nach einer merklichen Pause die Spaltung des Salicins. Das Salicin bewirkt also die Reactivirung des Emulsins.

Das vierte ist der Zusatz neuer activer Fermentmengen, wenn das Endstadium erreicht ist. Dann geht der Process bis zu einem neuen Endstadium, das wieder durch Ferment beeinflusst wird, etc.

Woher rührt diese Inactivirung? Die Schuld daran scheinen die Spaltproducte zu tragen. In der That bewirkt künstlicher Zusatz der Spaltproducte ein früheres Einstellen des Endpunktes, bei völliger Entfernung der Spaltproducte gedieh die Spaltung bis zum restlosen Ende. Dies giebt auch den Schlüssel für das abweichende Verhalten des Labfermentes. Da hier auf natürlichem Wege sich constant die Abscheidung des Spaltproductes, des unlöslichen Paracaseïns vollzieht, so kann das Labenzym seine Thätigkeit ungehindert entfalten bis zur völligen Umwandlung des Caseïns. „Die „unwirksame" Form der Fermente wird also durch die Spaltproducte erzeugt und ist nur in ihrer Gegenwart beständig" (Tamman). Da andererseits mehrfach angegeben wird, dass die Spaltproducte die „Tötungstemperatur" heraufrücken, so nimmt

Tamman an, dass das inactive Ferment langsamer zerfällt als das active.[1])

Bis hierher bin ich einfach Tamman's Ausführungen gefolgt. Bevor ich darin fortfahre, möchte ich einige Worte der Kritik einfügen. Zunächst hat Tamman die Unvollständigkeit der Fermentationen nur für eine beschränkte Anzahl von Fermenten dargethan.

Für die proteolytischen Fermente, namentlich das Trypsin hat er den Beweis nicht geführt. Denn die von ihm citirte Sistirung der Pepsinverdauung beruht auf einem Verbrauch von Salzsäure, nicht einer Inactivirung des Enzyms.[2]) Und beim Trypsin verhält es sich auch nicht so. Wie ich aus eigener Erfahrung angeben kann, kann man tryptische Zersetzungen von Eiweisskörpern so weit durchführen, dass nur eine minimale Quantität eines wahrscheinlich aus Verunreinigungen bestehenden Rückstandes hinterbleibt, und dass die Lösung absolut keine genuinen Eiweisskörper, ja nicht einmal mehr Albumosen enthält, so dass man hier eine restlose Aufspaltung des Proteïns anzunehmen berechtigt ist, wie ja auch von anderer Seite (Kutscher u. A.) angegeben wird. Natürlich könnte man annehmen, dass vielleicht die eigentlichen Fermentspaltungsproducte andere sind, die sich indess spontan oder unter dem Einfluss des schwach alkalischen Mediums weiter verändern und dadurch ihres Einflusses auf die Fermente verlustig gehen, wie dies Tamman vom Allylsenfoel angiebt, das in Cyanallyl übergeht (bei der Myrosinspaltung); indessen hätte man für diese Anschauung keinen Beweis. So ganz klar liegt die Sache also jedenfalls doch nicht. Und was den Einfluss der Spaltproducte anbetrifft, so lässt doch die Frage der Invertase eine unausgefüllte Lücke, da hier nicht derselbe einleuchtende Grund der Unwirksamkeit der Spaltproducte vorliegt, wie beim Lab. Und es giebt zu denken, dass gerade dieses gegen die Temperaturerhöhung so sehr empfindliche Ferment gerade bei 40°, also einer relativ hohen Temperatur, so restlos seine Aufgabe erfüllt, also nicht „inactivirt“ wird. Ferner müssen wir in Betracht ziehen, dass der Kühne'schen[3]) Ansicht von der hemmenden Wirkung der Peptone auf Pepsin, die Tamman citirt, z. B. von Chittenden und Ely[4]) geradezu widersprochen wird und dass für die Diastase Wortmann[5]) einen schädigenden Einfluss selbst sehr bedeutender Zuckermengen nicht zu finden vermochte,

1) Dies berichtet u. A. Biernacki (Z. f. Biol. 28. S. 62) für die Peptonwirkung beim Pepsin. Tamman macht die Angabe ohne Citat.

2) Gürber, Sitzber. Phys. Med. Erlangen 1895. s. b. Pepsin.

3) Kühne, Lehrb. d. phys. Ch. 1866. S. 39. cit. n. Tamman l. c. S. 294.

4) Chittenden und Ely, Journ. of phys. III. 327.

5) Wortmann, Z. phys. Ch. VI. 324 (1882).

wie überhaupt die Frage, ob die Spaltproducte an sich einen schädigenden Einfluss auf die Fermentwirkung ausüben, selbst bei dem gleichen Vorgang von den Autoren in der verschiedensten Weise beantwortet wird. Diese Bemerkungen sollen nur darauf hinweisen, dass die Verhältnisse doch wohl nicht so einfach liegen, wie Tamman dies annimmt, nicht aber die theoretische Bedeutung seiner geistvollen Ausführungen verkleinern. Es ist durchaus im Sinne unserer Anschauung, dass die Wirksamkeit der Fermente nicht ohne Weiteres mit den einfachen katalytischen Processen identificirt werden darf, sondern dass ihnen specifische Functionen innewohnen, deren Urgrund allerdings vorläufig noch in Dunkel gehüllt ist.

Die hochinteressante Feststellung von Tamman, dass ein Emulsin, das mit Amygdalin zum Endstadium des Prozesses, d. h. zur Unwirksamkeit gelangt ist, auf Salicin noch einwirkt, lässt dem Gedanken Raum, dass sich hier doch statische Gleichgewichtszustände, wenn auch anderer Art als bei Verseifungsreactionen, herstellen, die in einer irgendwie gearteten Bindung des Fermentes an sein Substrat ihre Ursache haben, einer Bindung, die der Spaltung vorhergeht. Welcher Art diese Bindung vielleicht sein könnte, darauf möchte ich späterhin die Aufmerksamkeit lenken. Die Thatsache liegt vor, dass in dem Amygdalin-Emulsingemisch ein statischer Zustand sich herstellen kann, der durch äussere Factoren, wie Wärme etc., aber auch durch Zufuhr neuen activen Materials, sei es Ferment oder ein anderes Substrat, gestört werden kann und in dynamische Wirkungen übergeht. Ob dieses Gemisch nicht vielleicht auch durch neue Zufuhr von Amygdalin reactivirt werden kann, darüber sind keine Versuche gemacht, die theoretisch sehr interessant wären. Solche Reactivirung durch dasselbe Substrat (Stärke) haben nämlich Moritz und Glendinning [1]) bei der Malzdiastase beobachtet (s. b. Diastase).

Bedeutung der Fermentmenge für den Spaltungsprocess: Dass die Fermente nicht wirken, wie „der Funke im Pulverfass", dass also bei ihnen nicht ein unmessbar geringer Aufwand von Energie genügt, um den einmal eingeleiteten Process bis ins Unendliche sich spontan fortsetzen zu lassen, wie man an einer einzigen kleinen Flamme sämmtliche Kohlenvorräthe der Welt verbrennen könnte, dafür liegen mannigfache Gründe vor. Zwar ist die Menge des Substrates, das ein Ferment im Verhältniss zu seiner eigenen Quantität verwandeln kann, eine ganz ungeheuere, so dass z. B. ein Theil des sicherlich noch nicht reinen Labferments mindestens 400000 Theile Caseïn umsetzen kann (Hammarstén), Invertase 100000 mal so viel Rohrzucker (O'Sullivan

1) Moritz und Glendinning, Journ. of chem. soc. 61. 689 (1892).

und Tompson) und andere Enzyme ähnliche colossale Mengen bewältigen können; sie ist indessen doch endlich begrenzt. Sowohl die Menge des im Endzustande gespaltenen Substrates, als auch die Zeitdauer der Reaction sind abhängig von der zugeführten Menge des Ferments. Jedoch nur bis zu einem gewissen Grade: Ist die Relation zwischen Ferment und Substrat erreicht, bei der das Maximum der Wirkung eintritt, so sind neue zugesetzte Fermentmengen ohne Einfluss. Auch dies gilt natürlich nur für Temperaturen, bei denen keine Zerstörung des Ferments eintritt. Auch diese Erscheinung, die also auf ein quantitatives Verhältniss zwischen Ferment und Substrat hindeutet, lässt sich im Sinne einer der Spaltung vorausgehenden Bindung der Fermente an das Substrat verwerthen.

Ausser der Fermentmenge spielen bei der Ausbildung der Endzustände auch noch der Verdünnungsgrad, jedoch in manchen Fällen, z. B. beim Salicin nicht, und die vorhandene Menge des Substrats eine bedeutende Rolle, ferner wie wir ja schon besprochen haben, die Temperatur. Das Maximum des Endzustandes wird also durch alle diese Factoren bedingt. Tamman hat es versucht, die sich durchkreuzenden Einflüsse zu untersuchen, und stellt als wahrscheinliche Formel für die Emulsin-Salicinlösung auf, dass „bei zunehmender Fermentmenge, constant bleibender Salicinmenge, die Menge des gespaltenen Salicins bei der Temperatur des Maximums in arithmetischer Reihe wächst, wenn die des Emulsins in geometrischer Reihe zunimmt".[1]) Bei Temperaturen unterhalb des Maximums werden überschüssige Fermentmengen gleichgiltig; bei solchen, die über dem Maximum liegen, wächst die Salicinspaltungsmenge noch, aber schwächer als in der angegebenen Regel, mit der zunehmenden Menge, während natürlich die Gesammtspaltung geringer wird und oberhalb der Zerstörungstemperatur aufhört. Das Maximum liegt bei geringen Fermentmengen schon bei 30°, steigt dann aber bis 46°. Aus der Form der von Tamman entworfenen Curve kann man Rückschlüsse auf die tieferen Temperaturen (unter 0°) machen, die auf eine ähnliche „Tötungstemperatur" in der Tiefe deuten (nach Tamman für Salicinemulsin — 65°).

Soweit die Resultate von Tamman. Auffällig sind dabei die merkwürdig geringfügigen quantitativen Wirkungen des Emulsins. Er giebt an, dass 0,01 mg Emulsin mit 0,25 g Amygdalin vermischt, so wenig spaltet, dass keine Blausäure, sondern nur der Geruch von Benzaldehyd nachweisbar ist. Andere Fermente scheinen doch weit energischer zu wirken. Das muss darauf hindeuten, dass man die

1) Tamman, l. c. S. 306.

Tamman'schen Schlüsse vorläufig eben nur für das Emulsin gelten lassen darf.

Geschwindigkeit der Fermentreaction: Die Fermente unterscheiden sich von explosionsähnlichen Energieentladungen auch durch die Langsamkeit ihrer Reaction. Die Geschwindigkeit der Fermentreactionen wird ebenso wie das Endstadium beeinflusst durch die Menge des Ferments und des Substrats, sowie der Temperatur. Ferner aber auch durch die Gegenwart fremder Stoffe.

Den Einfluss der Fermentmenge auf die Reactionsgeschwindigkeit haben u. A. für das Pepsin Brücke, für die Speicheldiastase Cohnheim, für Malzdiastase Schwarzer, für Invertase Barth, für Emulsin Markwort und Hüfner, für das Lab Mayer etc. untersucht. Alle diese Befunde geben das Resultat, dass die Zeit der Reaction abnimmt mit steigender Fermentmenge, jedoch nicht ihr direct umgekehrt proportional ist. Dies gilt nur für das Labferment, doch auch nur bis zu einer gewissen Menge des Fermentes (Peters). Tamman[1]) untersuchte die Einwirkung von Invertase auf Rohrzucker und fand die Curve von der entsprechenden der Säurespaltung ganz verschieden. Bei der Emulsinwirkung erreichte die Fermentmenge ein Maximum der Wirkung; grössere Mengen beeinflussten die Reactionsgeschwindigkeit nicht mehr.

Den umgekehrten Einfluss hat die Menge des vorhandenen Substrates bei gleicher Fermentmenge, indess besonders stark auf die Anfangsgeschwindigkeiten; später wird ihr Einfluss sehr gering.

Starke Concentration wirkt anfangs hemmend, später beschleunigend. Jedoch wird in gleichen Zeiten in verdünnten Lösungen mehr gespalten, als in concentrirten.

Besonders wichtig ist für die Auffassung der Sonderstellung der Fermente die Constatirung von Tamman, dass die beschleunigende Wirkung der Temperatur auf die Reactionsgeschwindigkeit nicht der Curve folgt, die für die Beschleunigung der hydrolytischen Säurespaltung gilt.

Von seinen einzelnen Befunden sei angeführt, dass unter 40° die Anfangsgeschwindigkeit bei Invertase verzögert wird, bei 50° nicht mehr. Temperaturen über 50° bewirken Vermehrung der Anfangsgeschwindigkeit, die dann sinkt. Der Grund für diese Abweichungen ist der, dass das Ferment bei höherer Temperatur immer schneller zerstört wird. In Folge dessen hat die Beschleunigung durch Fermente ein Temperaturmaximum, oberhalb dessen sie wieder sinkt.

Ueber die Einwirkung fremder Stoffe auf die Geschwindigkeit und

1) Tamman, l. c. S. 312.

Intensität der Fermentreactionen sind zahlreiche Untersuchungen angestellt worden (s. o.). Eine Vereinheitlichung der Befunde ist jedoch bei den widersprechenden Angaben unmöglich. Für einen Unterschied gegen die einfach hydrolytischen Processe spricht der Umstand, dass es Stoffe, z. B. Neutralsalze giebt, die Fermentreactionen befördern, dass dagegen alle Säurespaltungen von allen Zusätzen in der Geschwindigkeit beeinträchtigt werden (Nasse).[1]

Wir sehen also, dass wir allen Grund haben, eine Eigenwirkung der Fermente anzunehmen. Aus der physikalisch-chemischen Untersuchung folgt, dass von einer Identität mit einfacher Säurespaltung gar keine Rede sein kann.

Vor allem aber spricht dagegen die Specifität der Fermente.

Während man durch verdünnte Säuren unter annähernd denselben Bedingungen Stärke, Cellulose, Eiweisskörper, Glucoside etc. spalten kann, entfalten die Fermente unter denselben äusseren Bedingungen eine streng specifische Wirkung. Die stärkezerlegende Diastase ist ohne jede Einwirkung nicht nur auf Eiweisskörper, auf Amygdalin und Salicin (Cohnheim,[2] Nasse),[3] sondern sogar auf die viel näher verwandten Disacharide, Maltose und Rohrzucker, ja wahrscheinlich auch auf die der Stärke so nahe stehende Cellulose. Ganz analog sind die proteolytischen Fermente ohne jede Einwirkung auf Kohlehydrate und Fette etc. etc.

Und nicht nur die primär angegriffenen Stoffe sind nach der Natur der Fermente verschieden, sondern in einfacher Consequenz daraus auch die Ausdehnung des Processes. Weil eben Achroodextrin und Maltose gegen Diastase unempfindlich sind, bleibt der diastatische Abbau der Stärke bei diesen Spaltproducten stehen, während Stärke durch Säuren unter geeigneten Bedingungen direct in d-Glucose gespalten werden kann.

Wir stehen hier also vor dem Problem, wieso gerade nur das eine specifische Ferment in der Lage ist, energieauslösend in den Mechanismus der Atomschwingungen einzugreifen.

Den ersten Lichtschimmer in dieses Dunkel werfen die genialen Versuche von Emil Fischer,[4] der zum ersten Mal systematisch die stereochemische Betrachtungsweise auf die Fermentwirkung angewendet hat. Dass freilich die lebende Zelle sehr wohl im Stande ist, sterische Differenzen im Aufbau des Molecüls zu respectiren, zeigten schon die Versuche von Pasteur,[5] dass Pilze nur die rechtsdrehende

---

1) Nasse, Pflüg. Arch. XI. 147.
2) Cohnheim, Virch. A. 28. 241.
3) Nasse, l. c. S. 157.
4) E. Fischer, s. bes. Z. ph. Ch. 26. 71 (1898).
5) Pasteur, Compt. Rend. 51. 298 (1860).

Weinsäure verzehren können, und die ebenfalls längst erkannte Thatsache, dass auch die Gährfähigkeit der Zucker durch Hefe abhängt von ihrer sterischen Configuration. Es gähren zunächst überhaupt nur die Zucker mit sechs und neun Kohlenstoffatomen, von diesen wieder nur die in ihrem genetischen Zusammenhang zur „d"-Reihe gehörigen,[1]) und auch diese nur zum Theil, trotzdem sie völlig structuridentisch sind; aber sterisch sind sie verschieden, und das genügt, um sie der Gährwirkung der Hefe zum Theil unzugänglich zu machen.

E. Fischer übertrug dann diese Art der Betrachtung auf die Enzyme. Er stellte künstlich sterisch verschiedene, structuridentische Derivate der Zucker, z. B. Methylglucoside, Aether der Zucker mit Methylalkohol, dar. An diesen fand er nun zwei wichtige Gesetze:

Zunächst einmal wirkten die von ihm untersuchten Enzyme, die des Hefeninfuses und das Emulsin überhaupt nur auf die künstlichen Glucoside der gährfähigen Zucker, so dass hier schon die wesentliche Bedeutung der sterischen Configuration ins hellste Licht gerückt wird.

Zweitens aber erhielt er aus den gährfähigen Zuckern auch zwei stereoisomere Reihen von Glucosiden, die er als α- und β-Glucoside bezeichnet, und nun erwies sich die wundersame Thatsache, dass die Glucoside der α-Reihe nur von den Enzymen des Hefeninfuses, die der β-Reihe nur vom Emulsin angegriffen werden, womit also die specifische Wirkung der Enzyme auf die Spitze getrieben erscheint. Wir werden im speciellen Theil, bei der Besprechung der glucosidspaltenden Enzyme, genauer auf diese Thatsachen eingehen. Und doch liegt gleichzeitig in den Resultaten Fischer's andererseits auch eine Beschränkung der Specifität der enzymatischen Wirkung. Dass die Enzyme nicht in dem Sinne specifisch zu wirken brauchen, dass sie ihre Thätigkeit nun gerade ganz ausschliesslich auf einen chemischen Stoff richten, liegt ja klar auf der Hand, wenn wir bedenken, dass die proteolytischen Enzyme alle Eiweisssubstanzen, die doch sicherlich verschieden sind, angreifen, dass die Diastase alle Stärkearten, deren Verschiedenheit allerdings nicht nachgewiesen ist, und einen Theil der Dextrine, dass das Emulsin zahlreiche Glucoside spaltet.

Und so nimmt denn Fischer auch mit vollem Recht an, dass die Enzyme, welche die künstlich hergestellten Glucoside spalten, identisch sind mit den längst bekannten, welche einerseits Rohrzucker und Maltose, andererseits das Amygdalin und andere Glucoside

1) Die wirkliche Drehung ist dabei irrelevant: die linksdrehende Fructose, die systematisch zur „d"-Reihe gehört, gährt ebenfalls.

spalten. Es wäre eine gar zu unwahrscheinliche Voraussetzung, dass für die in der Natur nie vorkommenden künstlichen Glucoside im Hefeninfus resp. im Emulsin ganz specifische, ausschliesslich an sie adaptirte Enzyme vorkommen sollten.

So werden wir denn allmählich dazu hingeführt, dass es ganz bestimmte sterische Atomgruppirungen sind, die den Fermenten als Angelpunkt ihres Eingreifens dienen können; dass Fermente auch wohl in der Lage sein können, mehrere Körper verschiedener Structur zu spalten, wenn sie nur eben diese ihnen passende Atomgruppe vorfinden, mag sonst die Structur sein wie sie will.

Und wenn wir diesen Gedanken weiter verfolgen, so drängt sich, vorläufig in völlig nebelhafter, wissenschaftlich unfassbarer Gestalt, aber mit unwiderstehlichem Reiz die Analogie mit den Toxinen der Bacterien und den mit ihnen verwandten pflanzlichen Toxalbuminen auf.

Man wird es mir verzeihen, wenn ich es wage, diesen Gedanken weiter zu verfolgen.

Die Analogien in der Natur und in der Wirkung der Fermente und der Toxine sind unverkennbar und häufig hervorgehoben, von Roux und Yersin schon vor längerer Zeit, und jetzt besonders für das Tetanustoxin.[1]

Beide sind hochmoleculare Stoffe von unbekannter Natur: scheinbar eiweissähnlich, aber zum Theil ihre albuminoide Natur um so mehr abstreifend, je reiner man sie darstellen lernt.

Beide sind ausserordentlich empfindlich gegen Säuren und viele andere chemische Agentien; beide werden in ihrer Wirksamkeit durch Aufkochen unwiederbringlich zerstört.

Beide sind Producte lebender Zellen. Nehmen wir noch dazu, dass beide in so unendlich kleinen Mengen ihre Wirksamkeit entfalten,[2] dass man eben ihre Wirkung nicht als eine rein chemische, eine Massenwirkung auffassen darf, so sehen wir in der That der Analogien genug.

Man vergleiche ferner die specifisch hämoglobinlösende Wirkung des Tetanolysins (Ehrlich) mit der ganz analogen Wirkung der Fermente (Hildebrandt).[3]

---

1) s. Tizzoni und Cattani, Arch. ital. d. Biol. XIV. 105. Doch wird andererseits von Fermi und Pernossi (Z. f. Hyg. XVI. 385) die Enzymähnlichkeit des Tetanusgiftes sehr energisch bestritten.

2) Nach Brieger und Cohn ist die tötliche Dosis Tetanustoxin bei einem durchaus nicht reinen Gift 0,00023 g für einen Menschen! (Z. f. Hyg. XV. 1 (1893).

3) Hildebrandt, Virch. A. 121. 29 (1890).

Es ist also ausserordentlich verlockend, auch einen Versuch der Erklärung der Fermentwirkung auf dem Wege zu machen, den Ehrlich[1]) für die Toxine mit so grossem Erfolge gegangen ist.

Ehrlich's Anschauung über die Toxinwirkung ist auch eine stereochemische. Nach seiner Seitenkettentheorie ist die Möglichkeit einer Toxinwirkung ebenfalls daran geknüpft, dass die „haptophore“ Gruppe des Toxins in dem Protoplasma der Zelle eine dazu passende „haptophore“ Gruppe finden muss, an die sie sich und damit das Gesammtmolecül des Toxins heftet. Dann erst ist das Toxin befähigt, seine toxophore Gruppe ihre schädlichen Wirkungen auf die Zelle ausüben zu lassen. Fehlt die entsprechende haptophore Gruppe, so ist das Toxin der Zelle gegenüber machtlos; das erklärt die Specifität der Toxinwirkung.

Ganz analog wie Emil Fischer in seinem berühmt gewordenen Bilde von dem Schlüssel „Ferment“, der zu dem Schlosse „Substrat“ passen muss, stellt sich also Ehrlich die Bindung des Toxins an das Zellprotoplasma vor.

Könnten wir uns vorstellen, dass in einer irgendwie ähnlichen Weise die Fermente haptophore Gruppen besässen, die eben jenen sterisch bedingten haptophoren Gruppen des Substrates angepasst sind und sich an sie heften; könnten wir uns weiter vorstellen, dass den toxophoren Atomcomplexen, die den physiologischen Zerfall, den Tod der Zelle verursachen, eine „zymophore“ Gruppe des Fermentmolecüls entspräche, die den chemischen Zerfall des Molecularcomplexes auslöst, so hätten wir ein plastisches Bild, wie die specifische Wirkung der Fermente zu Stande käme. Ebenso, wie die toxophore Gruppe an sich durchaus nicht specifisch zu sein braucht, sondern eine ganz einfache physiologische Wirksamkeit durch chemische Affinität als Erklärung zulässt, so brauchte auch die die Spaltung auslösende zymophore Gruppe nichts Specifisches mehr zu besitzen, sondern vergleichbar einfachen katalytischen Substanzen wirken, also z. B. der einfachen Säurespaltung.

Sobald das Ferment durch die specifische haptophore Gruppe sich an das Substrat geheftet hat, ist das Specifische der Wirkung erreicht, die einfach chemische Wirkung beginnt. Und gerade wie bei einfachen krystalloiden Protoplasmagiften der physiologische Zerfall nicht an specifische sterische Configurationen, an haptophore Gruppen gebunden ist, so wirken auch die einfachen Säuren bei der Hydrolyse nicht specifisch, sondern wahllos auf alle spaltbaren Substanzen.

1) Ehrlich, Das Sauerstoffbedürfniss des Organismus. Berlin 1885. Klin. Jahrb. VI. s. dazu auch Oppenheimer, Biolog. Centralbl. 1899. S. 799.

Man sieht, wie ausserordentlich verlockend es ist, auf diesem Wege fortzuschreiten; doch dürfen wir dabei nicht ausser Acht lassen, dass bei aller scheinbaren Uebereinstimmung die Schwierigkeit der Durchführung einer derartigen Theorie der Fermente eine ganz gewaltige ist. Wir müssten den ungeheuren Schritt wagen, von dem Protoplasma der Zelle rückwärts zu schliessen auf die Configuration so einfacher Stoffe wie es der Rohrzucker und das Amygdalin sind, um dort ähnliche haptophore Atomcomplexe anzunehmen, wir müssten von der physiologischen Wirkung der toxophoren Gruppen den Schluss ziehen zu der chemischen Wirkung der zymophoren Gruppe, kurz, nur als tastender Versuch, als Befriedigung des Causalitäts- und Analogiebedürfnisses des Verstandes ist eine solche Theorie, bisher wenigstens, aufzufassen.

Doch giebt es bereits eine Reihe von Thatsachen, die im Sinne einer solchen Anschauung verwerthbar sind, abgesehen von den vielen Beziehungen in der Natur der Toxine und Fermente, die wir oben herangezogen haben.

Zunächst hat man schon frühzeitig eine wirkliche Bindung des Fermentes an sein Substrat vor seiner Wirkung beobachtet. Besonders frisches Fibrin hat die Fähigkeit, relativ grosse Mengen von Pepsin, Papaïn und Trypsin, jedoch auch von Diastase u. a., so fest zu binden, dass sie durch Auswaschen nicht entfernt werden können.[1]) Aehnliches hat man bei anderen Fermenten beobachtet. Dies könnte man als eine Absättigung der beiderseitigen haptophoren Gruppen betrachten.

Dafür spricht auch die für fast alle Enzyme constatirte Thatsache, dass die Tötungstemperatur für wässerige Lösungen niedriger liegt, als für die Gemische von Ferment und Substrat, so dass die etwa entstandene „Verbindung“ beider beständiger zu sein scheint. Tamman drückt dies so aus, dass das „inactive“ Ferment beständiger als das „active“ ist; doch kann man sich dabei nicht recht was vorstellen.

Will man fernerhin die Wirkung der zymophoren Gruppen auf eine einfache Säurewirkung zurückführen, so könnte man dafür andererseits die thatsächlich gefundene Bindung von schwacher Salzsäure an das Ferment ins Feld führen. (s. b. Pepsin.)

Die zuerst befremdende und scheinbar nicht in diesen Erklärungsversuch passende Thatsache, dass sich die Fermente mitunter auch an Stoffe binden, die sie nicht angreifen (z. B. Pepsin an Seide), könnte man im Rahmen dieser Vorstellung so deuten, dass zwar passende haptophore Gruppen vorhanden sind, nicht aber wirksame zymophore, so dass trotz präliminarer Bindung eine Einwirkung nicht erfolgt.

---

1) Litteratur bei Szumowski, Arch. d. phys. 1898. 160.

Viel mehr ins Gewicht fallend sind die Schlüsse, die sich aus den Erscheinungen der Bakteriolyse und der Hämolyse ziehen lassen. (s. im speciellen Theil.)

Hier handelt es sich zweifellos um echte Fermentwirkungen. Ein in den Organismus eingedrungener protoplasmatischer Schädling, ein Bakterium oder ein fremdes Blutkörperchen wird durch die proteolytischen Fermente des Blutes zerstört. Um nun aber die an sich zu schwachen proteolytischen Fähigkeiten des Blutes zu steigern, entsteht durch den Reiz dieses Schädlings ein ganz specifisch auf ihn eingestelltes Ferment,[1]) das seine haptophore Gruppe in die des Fremdlings hinein klammert und mit seiner zymophoren Gruppe ihn vernichtet.

Für diesen einen ganz speciellen Fall hätten wir also thatsächlich das Bild, wie es eine Theorie der Fermentwirkung im oben entwickelten Sinne geben würde: Zwei aufeinander eingepasste haptophore Gruppen („Schloss und Schlüssel") und die schliesslich wirksame zymophore Gruppe. Aber dieser Fall lässt sich eben leider nicht ohne Weiteres verallgemeinern.

Eine andere gewichtige Thatsache ist erst in jüngster Zeit bekannt geworden, welche die Analogien zwischen Toxinen und Fermenten von einer neuen Seite beleuchtet. Eine Consequenz der Ehrlich'schen Seitenkettentheorie war die Annahme der Bildung specifischer Antikörper aus überschüssig producirten haptophoren Gruppen, die, im Blute kreisend, eindringende Toxine an ihren haptophoren Gruppen ergreifen und unschädlich machen;[2]) das Serum, das solche Antikörper enthält, ist dann im Stande, im Reagensglas Toxine zu neutralisiren. Genau dasselbe ist nun Morgenroth[3]) beim Labferment gelungen. Auf dieselbe Weise, wie man den Organismus zur Bildung von Antitoxinen reizt, nämlich durch steigende Zufuhr von Toxinen, konnte er durch steigende Dosen von Labferment es bewirken, dass sich im Serum und der Milch der Versuchsthiere ein „Antilab" vorfand, das im Stande war, die Wirkung des Labfermentes auf Milch bis zu einem sehr hohen Grade zu paralysiren (vgl. bei Labferment).

Für diesen Fall haben wir also ebenfalls eine völlige Analogie mit den Toxinen. Ein Stoff, versehen mit einer haptophoren Gruppe, gebildet aus überschüssigen Seitenketten, zieht das Labferment durch dessen haptophore Gruppe an sich und verhindert es derart, seine zymophore Gruppe auf das Caseïn wirken zu lassen.

1) Der „Immunkörper" + dem „Addiment".

2) s. mein Referat im Biol. Centralbl. 1899. 799.

3) Morgenroth, Bacter. Centralbl. 26 (1899).

Sechstes Capitel.

Physiologische Wirksamkeit der Fermente.

Dass die Enzyme bei ihrer grossen Activität auch für den lebenden Organismus nicht gleichgiltig sein würden, war eigentlich vorauszusehen.

Béchamps und Baltus[1]) fanden, dass subcutane Injectionen von pflanzlicher und Pancreasdiastase giftig wirkten.

Bergmann und Angerer[2]) wiesen nach, dass Pancreatin und Pepsin bei der subcutanen Injection ihrer Lösungen die Temperatur steigern und sehr giftig sind. Aehnliches fand Roussy[3]) bei einem aus verdorbenem Biere gewonnenen Stoff mit invertirenden Eigenschaften, dem er den sehr überflüssigen Namen „Pyrétogenin" gab.

Mendelson[4]) fand bei Hunden Fiebererregung durch Pepsin, wobei der Blutdruck beträchtlich gesteigert wurde.

Hildebrandt[5]) hat dann die physiologische Wirksamkeit von Pepsin, Labferment, Invertase, Diastase, Emulsin und Myrosin genauer untersucht.

Alle wirkten toxisch. Die einfach letale Dosis für ein mittelgrosses Kaninchen betrug für Pepsin, Invertase und Diastase ca. 0,1 g, für Emulsin und Myrosin 0,05 g, ja selbst 0,025 g (erst nach $1\frac{1}{2}$ Wochen). Labferment war weit weniger giftig: die letale Dosis war 2 g.

Alle zeigten ferner bei Injection von Lösungen in steriler 0,6 % Kochsalzlösung fiebererregende Wirkung, bis ca. 41°, schneller bei intravenöser, als bei subcutaner Injection. Anfangs war die Wärmeproduction allein gesteigert, dann auch die Wärmeabgabe, die beim Abklingen

1) Béchamps und Baltus, C. R. 90. 373. 539 (1880).

2) Bergmann und Angerer, Festschr. zum 500j. Best. d. Univ. Würzburg. 1882. 137.

3) Roussy, D. med. Woch. 1889. 874.

4) Mendelson, Virch. A. 100. 291 (1885).

5) Hildebrandt, Virch. A. 121. 1 (1890).

des Fiebers sich gegenüber der Production relativ stark vermehrte. Hildebrandt kommt bei näherer Untersuchung zu dem Schluss, dass es sich bei diesen Erscheinungen um echte Fiebererscheinungen (Fermentfieber) handelt, wie ja auch Antipyretica (Kairin) sich wirksam erwiesen.

Die Symptome der Vergiftung waren Fressunlust, Durst, Zittern, Unruhe, taumelnder Gang, schliesslich Coma (bei Hunden). Bei Kaninchen waren hauptsächlich Abmagerung, Schwäche, manchmal Streckkrämpfe zu beobachten.

Bei der Section fanden sich zahlreiche Hämorrhagien in inneren Organen, fettige Degenerationen des Herzens und der Leber, Stauungsniere, Thrombosen.

Labferment wirkte nur sehr schwach, wohl weil ihm die Körpertemperatur von ca. 40° schon schädlich ist (Mayer.)[1] Auch bei der Invertase gelang es Hildebrandt, die Thiere durch künstliche Ueberhitzung theilweise zu schützen, so dass er geneigt ist, die Wärmeerhöhung im Fieber überhaupt als eine heilsame Reaction gegen das Ferment zu betrachten.

Die Fermente erwiesen sich als Blutgifte, indem sie den rothen Blutkörperchen den Farbstoff entzogen und ihn reducirten. Während die Fermente intra vitam Blutgerinnungen veranlassten, bestätigte Hildebrandt die Angaben von Albertoni[2]) und Salvioli,[3]) dass sie, zu Blut ausserhalb des Körpers zugesetzt, gerinnungshemmend wirken. Es gerann aber auf Zusatz von „Fibrinferment".

Die fiebererregende Wirkung und die sich anschliessenden Vergiftungserscheinungen nach Injection von Fermenten wollte Fermi[4]) auf gleichzeitige Miteinführung von pathogenen Mikroben zurückführen. In der That hatte Hildebrandt es versäumt, den bindenden Nachweis zu führen, dass seine Mittel zur Sterilisirung wirklich diesen Erfolg erzielt hatten. Dies that indessen an seiner Stelle Kionka,[5]) der mit nachgewiesen sterilen Fermenten (durch Sublimat und Thonfilter) Hildebrandt's Resultate bestätigte und zeigte, dass die von Fermi (l. c.) angewendeten Methoden zur Sterilisirung der Fermente auch die enzymatische Wirksamkeit so geschwächt hatten, dass sie nicht mehr toxisch wirkten.

Indessen hält Fermi[6]) seine abweichende Anschauung völlig auf-

---

1) A. Mayer, Enzymologie. Heidelberg 1882.
2) Albertoni, C. med. Wiss. 1878. No. 36.
3) Salvioli, C. med. Wiss. 1885. 913.
4) Fermi, Arch. f. Hyg. XII. 238. XVI. 385 (1894).
5) Kionka, D. med. Woch. 1896. 612.
6) Fermi, Maly's Jb. 1897. 828.

recht, so dass eine Einigung über diese Frage bislang nicht erzielt ist.

Jedoch ist es sehr wahrscheinlich, dass den Fermenten wirklich Eigenschaften zukommen, die auch manchen Bacterientoxinen eigen sind. Hildebrandt[1]) konnte in einer späteren Arbeit nachweisen, dass die Fermente chemotactisch wirken, d. h. Leucocyten heranziehen und so auch local, z. B. an der Injectionsstelle Entzündungen hervorrufen.

Er untersuchte ferner die Eingangspforten für eine Fermentintoxication. Im Magen wurden sie zerstört und zwar durch das Pepsin, dagegen erwiesen sich Clystiere und Einträufelungen in den Conjunctivalsack als wirksam.

Die Fermente zeigten sich im Stande, ein frisch herausgenommenes Froschherz zum Stillstand zu bringen und erwiesen sich im Allgemeinen als echte Protoplasmagifte.

Es gelang Hildebrandt ferner, eine gewisse Giftfestigkeit der Versuchsthiere speciell gegen Emulsin zu erzielen, und zwar eine Giftfestigkeit, die einer echten Immunisirung insofern ähnlich war, dass die Thiere nicht nur grössere Dosen Emulsin anstandslos vertrugen, sondern dass auch die specifische Wirksamkeit der Fermente im Organismus zum mindesten stark herabgesetzt erschien.

Zu diesen Fermentimmunisirungen seien auch die Versuche erwähnt, durch Einführung von Diastase gegen das sacharificirende Ferment, dessen übermässige Thätigkeit mit zur Entstehung des Diabetes beitragen soll, zu immunisiren. Kussmaul[2]) will bei diesen Versuchen bei intravenöser Einspritzung von Diastase Verminderung der Zuckerausscheidung gesehen haben, desgl. Lépine.[3])

---

1) Hildebrandt, Virch. Arch. 131. 5 (1893).
2) Kussmaul, A. f. klin. Med. XIV. (1874).
3) Lépine u. Barral, C. R. 113. 1014. (—) 1891.

Siebentes Capitel.

Secretion der Enzyme.

Wenn wir auch aus den oben entwickelten Gründen die rein biologische Auffassung der Fermentationen durchaus ablehnen müssen, so ist doch die praktische Bedeutung dieser Vorgänge für biologische Probleme so eminent, dass wir ihr ausführlicher gerecht werden müssen.

Wir fassen die Fermente auf als echte Secretionsproducte des lebenden Protoplasmas, die indessen zum Theil dadurch von gewöhnlichen Secreten sich unterscheiden, dass sie in mehr oder minder festem Zusammenhang mit der sie erzeugenden Zelle bleiben, dass also, wenn ich mich eines in nichts vorgreifenden Ausdruckes bedienen darf, ihre zymophore Gruppe noch mit dem Kern des Protoplasmamolecüls in Verbindung steht. Diesen Zusammenhang kann man nun bislang entweder gar nicht trennen; diese Fermente bilden also gewissermassen den Rest der „geformten" Fermente im alten Sinne. Oder aber dieser Zusammenhalt lässt sich durch energische Eingriffe, die die Zelle als lebendes Individuum vernichten oder schwächen, zerreissen: die so gewonnene Gruppe von Enzymen steht dann in der Mitte zwischen den „geformten" und „ungeformten" Fermenten; sie kommen zum Theil auch unter anderen Bedingungen als frei secernirte Fermente vor. Indessen wird eins von ihnen, das nur durch ausserordentliche Gewalteinwirkung auf die Zelle isolirt werden kann, die Zymase Buchner's, praktisch wohl noch lange als geformtes Ferment bezeichnet werden, während die andern, besonders Maltase und Invertase, praktisch zu den Enzymen gezählt werden.

Wir haben also drei Gruppen von Fermenten zu unterscheiden, die fest gebundenen, die gebundenen, aber vom Lebensprocess isolirbaren und die einfach secernirten Fermente.

Die erste Gruppe umfasst:

1. die Milchsäuregährung,
2. die Essigsäuregährung und einige andere Oxidationsgährungen.

Die zweite Gruppe besteht:

A. Aus den Enzymen der Disacharide:
1. Invertase,
2. Maltase,
3. Lactase,
4. Trehalase etc.

B. Aus dem harnstoffspaltenden Enzym, der Urase.

C. Aus der Zymase Buchner's und einigen noch nicht näher erforschten proteolytischen Enzymen, die auf demselben Wege gewonnen sind.

Die übrigen Enzyme werden ohne Schwierigkeiten in die umgebenden Medien abgegeben; sind also in Wasser- und Glycerinextracten etc. nachzuweisen. Sie bilden die dritte Gruppe.

Während man über die Secretionsbedingungen der ersten Gruppe naturgemäss gar nichts aussagen kann, da sie eben aus der Zelle überhaupt nicht herausgehen und ihre Wirkungsbedingungen mit den Wirkungsbedingungen ihrer Mutterzellen zusammenfallen, hat man über die Art der Secretion der zweiten Gruppe von Enzymen viel gearbeitet. Es handelte sich hier darum, das Verhältniss der Zellvitalität zur enzymatischen Wirkung festzustellen. Besonders wichtig ist für diese Frage das Studium der Enzyme der Hefe geworden. Die lebende gesunde Hefezelle giebt an einen wässrigen Infus im Wesentlichen nur ein Ferment, die Hefediastase, in geringer Menge ab. Wird die Hefe dagegen durch chemische oder physikalische Mittel getötet oder geschwächt, so ändert sich das Bild ganz wesentlich.

Die Mittel, die man zu diesem Zwecke anwendet, sind folgende: Entweder schwächt man die Lebensenergie der Hefe dadurch, dass man sie lufttrocken werden lässt, bei einer Temperatur, die ca. 30° nicht übersteigt. Ist sie trocken, so kann man die Schwächung durch kurzdauerndes Erhitzen auf 100° noch verstärken.

Ein anderes Mittel ist die Anwendung von Protoplasmagiften, die die eigentliche Gährfähigkeit ausschalten, ohne dass die Enzyme dadurch geschädigt werden; namentlich Toluol, Chloroform, Aether, Salicylsäure, Thymol werden dazu verwendet.

Doch scheint hier zum Theil der Unterschied vorzuliegen, dass die vergifteten Hefen zwar die Enzymwirkung erkennen lassen, dass aber die Enzyme nicht in den Infus eingehen, so lange die Zellwand unverletzt ist, wenigstens ist dies bei einzelnen Hefen sichergestellt. Es ist also bisher nicht mit Sicherheit zu entscheiden, ob die Enzyme an das Protoplasma irgendwie gebunden oder einfach durch die intacte Zellwand retinirt sind.

Die so präparirten Hefen verhalten sich dann folgendermassen:

Die gewöhnlichen Hefen, die Rohrzucker und Stärke vergähren können, geben dann ausser der stärkespaltenden Diastase noch zwei weitere Enzyme ab, die den Rohrzucker spaltende Invertase und die den Malzzucker spaltende Maltase, ferner meist die noch wenig untersuchte Trehalase.

Einigen Hefen fehlt eins oder das andere Enzym; so enthält Sacharomyces Marxianus nur Invertase, Sacharomyces octosporus nur Maltase, Sacharomyces apiculatus keins von beiden etc. Die untergährigen Hefen weisen noch ein besonderes (?) Ferment, die Melibiase auf.

Die Milchzuckerhefen geben unter denselben Bedingungen an Stelle der Maltase ein Milchzucker spaltendes Enzym, die Lactase ab; doch geht diese in Wasserextracte nur in sehr geringer Menge über.

Besonders interessant gestaltet sich der Fall der Monilia candida. Diese Pilzhefe enthält ein Rohrzucker invertirendes Ferment, da sie im Stande ist, diesen zu vergähren. Diese Invertase der Monilia ist indessen auf keine Weise aus den Zellen zu isoliren. Dass aber auch hier ein vom Lebensprocess unabhängiges Ferment obwaltet, ist daran zu erkennen, dass die Hefe auch dann noch Rohrzucker invertirt, wenn ihre Gährfähigkeit durch Toluol etc. aufgehoben wird. Wir müssen also entweder mit Fischer [1]) annehmen, dass die Moniliainvertase in Wasser unlöslich ist, oder dass die Zellwände dieser Hefe so widerstandsfähig sind, dass sie auch nach dem Trocknen und Erhitzen noch für das Enzym undurchlässig sind. Für die Moniliainvertase gilt also das im weitesten Sinne, was für die Lactase oben angedeutet wurde, die ja auch nur in geringer Menge in Infuse übergeht.

Diese Bindung der Invertase und Maltase an die Zelle findet sich indessen nur bei den entsprechenden Enzymen der Hefe und einiger anderer Pilze. Sie kommen anderweitig auch frei secernirt vor, besonders in thierischen Säften, wie wir dies von der Pancreasmaltase, Darminvertase etc. wissen.

Ein anderes Enzym, das aus den gesunden Zellen nicht herausgeht, ist die ammoniakbildende Urase einiger Bacterien; aus den lebenden Culturen ist sie nicht zu isoliren, wohl aber nach Vergiftung der Microben durch Alkohol.

Finden wir bei den eben besprochenen Enzymen einen ziemlich

---

1) E. Fischer, J. ph. Ch. 26. 77. (1898). Die übrige Litteratur s. im speciellen Theil bei den einzelnen Fermenten.

lockeren Zusammenhang mit dem Zellleib, so dass es relativ leicht gelingt, sie von der Lebensthätigkeit der Mutterzelle getrennt zu beobachten, so spottete dagegen das alkoholisirende Ferment der Hefe aller Versuche, es zu isoliren. Durch Anwendung ganz gewaltiger Einwirkungen, besonders hoher Drucke, gelang es dann endlich E. Buchner, aus der Hefe das Enzym der Alkoholgährung, die Zymase zu isoliren, die also gewissermassen zwischen den Hefenenzymen der vorher besprochenen Art und den überhaupt noch nicht isolirten Fermenten einen Uebergang bildet. Ihre Auffindung giebt der Hoffnung Raum, dass durch ähnliche Gewaltmassregeln vielleicht auch noch das Milchsäure- und das Essigferment als Enzyme isolirt werden können, was als Schlussstein unserer theoretischen Betrachtungen sehr erwünscht wäre.

Bei all diesen Fermenten ist eine directe Beobachtung des Secretionsvorganges und der mit ihm einhergehenden Veränderungen der Mutterzelle natürlich unmöglich, da eine Secretion ja erst nach einer so erheblichen Schädigung des Protoplasmas erfolgt, dass an ihm Veränderungen in histologischem Sinne nicht mehr nachgewiesen werden können.

Um so eifriger hat man sich mit den Veränderungen der Zellen beschäftigt, die einfach lösliche Fermente secerniren.

Die Enzyme der Thiere werden zum grossen Theil in besonderen Organen gebildet und ausgeschieden, die man als Drüsen bezeichnet. Es sind dies namentlich die sacharificirende Fermente bildenden Mundspeicheldrüsen, ferner die Pepsin und Lab absondernden Drüsen des Magens und die Bauchspeicheldrüse, die drei Fermentgruppen, nämlich Trypsin, sacharificirende Fermente und Lipase absondert; hierzu kommen als weniger bedeutsam noch die Darmdrüsen, deren wichtigstes Product Invertase neben Diastase ist, die Leber etc. Bei einigen niederen Thieren sind die Functionen mehrerer Drüsen vereinigt in der Mitteldarmdrüse, die ausser proteolytischen, sacharificirenden und fettspaltenden Enzymen bisweilen auch Cellulose lösende Enzyme abgiebt.

Die histologischen Veränderungen, welche diese Drüsen bei der Secretion der Enzyme erleiden, sowie die Beziehungen der Drüsenzellen zu den Enzymen überhaupt sind insbesondere durch die Arbeiten von Kölliker, Rollet, Heidenhain, v. Wittich, Grützner, Langley, Biedermann[1]) u. v. A. in genauester Weise untersucht und bis in die feinsten histologischen Details festgestellt. Es erscheint unmöglich, das Ergebniss dieser Arbeiten in kurzen Worten zu resu-

1) In Betreff der Litteratur verweise ich wiederum auf den speciellen Theil.

miren, und sie in feineren Details hier aufzurollen, würde über den Rahmen dieser Schrift weit hinausgehen.

Nur soviel sei hier erwähnt, dass die secernirenden Zellen während des Ruhestadiums relativ gross sind, wenig Protoplasma enthalten, dafür aber angefüllt sind mit Stoffen theils mehr homogener, theils auch granulirter Structur, die man als die Fermente oder vielmehr die Materialien zur Bildung der Fermente betrachtet. Tritt nun der die Secretion bewirkende Reiz ein, so werden diese metaplasmatischen Substanzen ausgeschieden, die Zelle verkleinert sich, ihr Protoplasma nimmt an Mächtigkeit zu, um bei wieder eintretendem Ruhezustand neue Fermentmengen zu erzeugen, die vorerst in inactiver Form, als sogenannte Zymogene in den Zellen abgelagert werden.

War so bei den Thieren durch die Existenz besonderer drüsiger Apparate die histologische Problemstellung weit präciser, so verhielt es sich für die Pflanzenenzyme etwas anders. Man fand frühzeitig in den Pflanzen weit verbreitet allerlei Enzyme, aber über ihre Localisation in den einzelnen Pflanzentheilen und Geweben konnte man sich nicht einigen.

Erst in neuerer Zeit beginnen sich gewichtige Stimmen von Forschern geltend zu machen, welche auch bei den Pflanzen besondere secretorische Organe oder mindestens secretorische Zellgruppen annehmen und ihre Ansicht histologisch begründen. Ich will hier nur auf die im speciellen Theil näher zu besprechenden Untersuchungen von Tangl, Haberlandt, Brown und Morris, Grüss über die Diastase, von Marshall Ward über die Cytase, von Guignard über das Emulsin und Myrosin, Gardiner über die proteolytischen Fermente von Dionaea hinweisen, die alle bestimmt localisirte Zellgruppen, deren secretorische Thätigkeit sich mikroskopisch verfolgen lässt, für die Enzymproduction verantwortlich machen.

Die Zymogene: Je intensiver man sich mit der Frage nach der Secretion der löslichen Fermente beschäftigt, desto mehr gewinnt es den Anschein, als ob innerhalb der lebenden Zelle und unmittelbar nach dem Secretionsvorgang die Fermente sich allgemein nicht in wirksamem, activem Zustande befinden, sondern in einem Vorstadium, das man als Proferment oder Zymogen bezeichnet. Vom Pepsin und Trypsin nimmt man dies schon seit langem an und besonders Langley und Heidenhain haben diese Anschauung begründet, indessen scheint diese Erscheinung für einen sehr grossen Theil aller Enzyme, auch die der Pflanzen zu gelten, worauf besonders Green hingewiesen hat.

Diese Zymogene sind an sich unwirksam, sie gehen aber bei Berührung mit bestimmten „zymoplastischen“ Substanzen, besonders

verdünnten Säuren, in die activen Fermente über. Was diese Activirung für ein Process ist, darüber kann man nur Vermuthungen aufstellen; dass gerade verdünnte Säuren die besten zymoplastischen Substanzen sind, weist darauf hin, dass es hier sich wohl um Spaltungen von höheren Complexen, vielleicht aus Verbindungen von Fermenten mit Eiweisssubstanzen bestehend, handeln könne.

Die Zymogene sind meist gegen äussere Einflüsse resistenter als die Fermente selbst.

Häufig kann man diese Zymogene directer Beobachtung innerhalb der Zelle zugänglich machen; sie stellen Granula von bestimmter Anordnung und Färbbarkeit dar, die unter dem Mikroskop sichtbar sind. Dies gilt besonders für die Zymogene des Pepsins und Trypsins in den entsprechenden Drüsenzellen; doch auch andere Beobachtungen sprechen dafür, wie z. B. die Befunde von Haberlandt bei der Diastase des Samenendosperms und Wards bei der Cytase der von ihm untersuchten Botrytisarten.

Achtes Capitel.

Wichtigkeit der Fermente für den Lebensprocess.

Wenn wir auch in der biologischen Werthschätzung der Fermente nicht so weit gehen, dass wir geradezu das Leben mit fermentativen Vorgängen identificiren dürfen, so spielen doch die Fermente in dem gewaltigen Kreislauf der Sonnenenergie, der den Gesammtstoffwechsel aller Lebewesen ausmacht, eine eminent wichtige Rolle.

Die Stoffe, aus denen sich der pflanzliche und thierische Körper aufbaut, werden ihm niemals in der Form dargeboten, wie sie im lebenden Protoplasma vorhanden sind, sondern stets muss ihrer Aufnahme in das Protoplasma eine Veränderung vorhergehen, die wir als Assimilation im weitesten Umfange bezeichnen können.

Diese Assimilation vollzieht sich im Wesentlichen durch zwei Processe, durch Synthese und Spaltung. Beide sind nothwendige Functionen jedes lebenden Wesens. Jedoch ist die Ausdehnung und die physiologische Bedeutung dieser einzelnen Processe bei den beiden grossen Hauptstämmen des Organismenreiches verschieden. Nicht dass wir im Allgemeinen berechtigt wären, hier eine scharfe Grenzlinie zu ziehen und zu definiren, dass den Thieren ein vorwiegend spaltender, den Pflanzen ein vorwiegend aufbauender Stoffwechsel zukäme; denn nicht der Umfang eines Processes macht seine biologische Bedeutung aus. Für das Thier ist der synthetische Aufbau seines Protoplasmas aus ihm zugeführten und gehörig vorbereiteten pflanzlichem Eiweiss, seines Glycogens aus fremden Kohlehydraten genau so unentbehrlich, wie andererseits für die Pflanze die Athmung und die Ernährung des Keimlings, die unter Spaltung einhergehen. Nur wenn wir den Umfang beider Processe vergleichen, ihn an den Zahlengrössen der umgesetzten Energie messen, dann allerdings kommen wir zu dem Schluss, dass den Pflanzen ein vorwiegend aufbauender, mit Verbrauch von Energie verbundener, endothermaler Stoffwechsel zukommt, während bei den Thieren der

exothermale Stoffwechsel überwiegt. Und nur in diesem Sinne dürfen wir das Bild festhalten, dass die Pflanze die ihr in Licht und Wärme zugeführte Energie aufspeichert; das Thier diese potentielle Energie wieder in kinetische: Bewegungsenergie, Wärme u. s. w. umsetzt. Die Pflanze hat eben in ihrem Lebensprocess die ihr allein innewohnende, an das Chlorophyllsystem gebundene Fähigkeit, aus völlig energielosen, einfachen Stoffen, wie Wasser, Kohlendioxyd, Stickstoff und anorganischen Salzen jene complicirten Stoffe entstehen zu lassen, welche dann erst das Substrat für alle weiteren Stoffwechselumsetzungen darbieten. Aber abgesehen davon zeigen bei Pflanzen und Thieren die Umsetzungen dieser Stoffe denselben Modus. Aus den unlöslichen, für die Zelle unverwerthbaren hochcomplexen Stoffen, den Proteïnen, der Stärke (und Cellulose) und den Fetten, werden zuerst durch Spaltung einfachere Stoffe gebildet (erste Phase) und diese, je nach ihrer physiologischen Bestimmung, entweder durch neuen Aufbau in Bestandtheile des Protoplasmas[1]) umgewandelt oder aber, zur Erzeugung der zur Erzeugung von Wärme, Licht, Electricität etc. nöthigen kinetischen Energie weiter gespalten[2]) (zweite Phase). Während nun diese zweite Phase des Abbaues bei den Thieren in besonders prägnanter Form erscheint, bei den Pflanzen jedoch mehr zurücktritt, ist die erste Phase, der Abbau bis zu solchen Producten, welche durch neuen Aufbau dem Protoplasma eingeordnet werden können und dieser erneute Aufbau selbst ein biologisch bei Pflanzen und Thieren gleich bedeutsamer Process. Hier wie dort finden wir den Abbau complicirter unbrauchbarer Stoffe zu einfacheren und Assimilation dieser einfacheren, löslichen Stoffe an das Protoplasma.

Während wir nun anzunehmen berechtigt sind, dass die Fähigkeit der Aufnahme löslicher Stoffe unter Bindung von Energie ein Privileg der lebenden Zelle ist, dass nur diese im Stande ist, solche endothermalen Processe zu vollziehen, spielen in der ersten Phase,

1) Aus dem Protoplasma entstehen dann durch secundäre Umsetzungen wohl im Wesentlichen abbauender Art alle jene chemischen Stoffe, welche ausser dem Protoplasma noch irgend welche Functionen bekannter oder unbekannter Art zu erfüllen haben: Knochen, Blutfarbstoff, Pigmente, Holz, ätherische Oele, Alkaloïde etc. Diese Processe berühren das hier vorliegende Problem also nicht.

2) Nach der Ansicht von Kassowitz (Allg. Biologie. Wien 1899) findet auch dieser Verbrauch zum Zweck der Energiebildung erst nach Aufnahme in das Protoplasma (metabolisch) statt. Er nimmt also, schematisch gesprochen, nicht eine divergirende Zweitheilung der zweiten Phase an; sondern eine einheitliche Aufnahme in das Protoplasma, der dann eine dritte Phase (Zerfall des Protoplasmas) folgt.

der Vorbereitung der zu assimilirenden Stoffe durch Spaltung, die Fermente eine sehr wichtige Rolle. Ihnen liegt es im Wesentlichen ob, die complicirten Nährstoffe durch spaltende, exothermale Processe löslich und für das Protoplasma aufnahmefähig zu machen.

Und so darf es uns denn nicht Wunder nehmen, wenn wir den Fermenten überall begegnen, wo Leben sich regt. Von dem winzigen Bacterium und den seltsamen Myxomyceten an durch die ganze Pflanzen- und Thierwelt bis zu den höchstorganisirten Blüthenpflanzen und den Säugethieren finden wir sie überall in ihrer bedeutsamen Thätigkeit. Während in den Auszügen oder Presssäften einzelliger Lebewesen die verschiedenen nothwendigen Fermente in buntem Gemisch vereinigt sind, finden wir in den höheren Organismen besondere Organe, denen ihre Production obliegt.

So zeigen sich einzellige und höhere Lebewesen gleichmässig im Stande, mit Hilfe ihrer Fermente die ihnen als Nährstoffe dargebotenen Eiweisskörper, Kohlehydrate und Fette so vorzubereiten, dass sie zu assimilirbaren Stoffen werden.

Betrachten wir z. B. den Vorgang bei einem höheren Thier. Schon im Munde beginnt die Thätigkeit der Verdauungsfermente. Die unbrauchbare Stärke wird schon hier zum Theil in löslichen Zucker umgewandelt. Dieser Process sistirt, sobald oder kurz nachdem die Nahrung in den Magen gelangt ist. Hier hingegen beginnt der Abbau der Proteïne durch das Pepsin, der unterstützt wird durch die vorbereitende Gerinnung der Milch durch das Labferment. Die energischste Veränderung erleiden indess die Nährstoffe erst im Darm. Hier werden die Fette gespalten; die Spaltung der Eiweissstoffe zu Ende geführt; die eingeführten Kohlehydrate durch verschiedene Fermente in aufnahmefähige Monosacharide (Glucose, Galactose, Fructose) übergeführt.

Ganz ähnlich müssen wir uns den Verlauf bei den Pflanzen denken. Wohl ist es möglich, dass die Pflanzen einen Theil ihrer assimilirten Stoffe bei der Synthese aus den einfachen Nährstoffen nur bis zu dem Punkte aufbauen, dass er direct resorptionsfähig wird, z. B. direct durch Synthese Zucker erzeugen; wir wissen das nicht.[1])

Sicher ist es indessen, dass sie in der Zeit des Ueberflusses, wenn im Sonnenlichte aufbauende Processe sich entfalten, einen grossen Theil dieser Processe so weit vorschreiten lässt, dass sich höhere, nicht

1) Es spricht indessen besonders für die Kohlehydrate manches dafür, dass z. B. die Stärke nur Reservestoff ist, d. h. dass ein grosser Theil des Zuckers direct nach dem synthetischen Entstehen verbraucht wird.

ohne erneute Spaltung assimilirbare Producte bilden, die sie zum Theil selbst in den Zeiten mangelnder Assimilation (z. B. in der Nacht) mit Hilfe von Fermenten zur Aufnahme in die Zelle oder zur Erzeugung von Lebensenergie heranzieht, oder aber in ihren Fortpflanzungsorganen aufspeichert. Der pflanzliche Embryo, der, getrennt von der Mutterpflanze, auf sich selbst angewiesen, sein neues Dasein beginnen muss in einem Boden, der ihm nichts bietet als Wasser und Nährsalze, ist versehen mit einer reichlichen Menge von Reservenährstoffen, die ihm solange zur Erhaltung dienen sollen, bis ihm die Schaffung eines eigenen Chlorophyllsystems die unabhängige Existenz gewährleistet. Diese Nährstoffe sind aber durchaus in der gebotenen Form für den Embryo unbrauchbar: Eiweissstoffe, Stärke, Cellulose und Fette. Um sie zu verwerthen, bedient sich der Pflanzenembryo der Enzyme, welche ihm diese Stoffe in brauchbarere überführen.

Ganz analog scheint sich der thierische Embryo zu verhalten, dessen Entwicklung, getrennt vom mütterlichen Organismus, im Eidotter beginnt, wie bei Vögeln etc.

Besonders interessant ist die an den verschiedensten Beispielen constatirte Thatsache, dass die Fermente ausschliesslich oder doch vorwiegend dann von der Zelle producirt werden, wenn sie gebraucht werden, resp. wenn keine ohne Weiteres resorbirbare Nährstoffe zur Verfügung stehen.

So erklären Brown und Morris[1]) die Thatsache, dass am Morgen der Diastasevorrath der Blätter am grössten ist, am Tage dagegen abnimmt, auch dadurch, dass während der Assimilation im Sonnenlicht, die direct Zucker erzeugt, die Diastaseproduction als überflüssig sistirt; freilich wird durch das Licht die Diastase auch direct zerstört (s. b. Diastase).

Ferner enthält der ruhende Samen der Pflanzen kein Ferment oder nur geringe Mengen. Der Embryo ist noch nicht zum Leben erweckt, ein Bedürfniss für die Umsetzung der aufgespeicherten Reservestoffe ist nicht vorhanden. Sobald aber die Keimung beginnt, treten die nöthigen Fermente auf. Der Embryo bildet sich dann die sacharificirenden, proteolytischen, fettspaltenden, cellulosespaltenden Fermente, deren er zur Nutzbarmachung seiner ihm mitgegebenen Vorräthe bedarf.[2]) Brown und Morris[3]) zeigten, dass der Gerstensamenembryo keine Diastase producirt, wenn man ihm resorbirbare Zucker zur Verfügung stellt. Ueberhaupt findet sich in den Pflanzen nur dort

---

1) Brown und Morris, Journ. chem. Soc. 63. 604 (1893).
2) s. d. z. B. Hansen, Arb. bot. Inst. Würzb. III. 285.
3) Brown und Morris, Journ. chem. Soc. 57. 395. (—) 1890.

Diastase, wo Stärke „wandert“, bei der Kartoffel z. B. fast nur in keimenden Knollen und den Blättern (A. Mayer).[1])

Aehnlich bilden die Schimmelpilze keine Fermente, solange man sie auf Nährböden züchtet, denen sie ohne Weiteres ihren Bedarf entnehmen können; sie bilden aber sofort proteolytische Enzyme, wenn man sie auf Eiweissnährboden cultivirt, Diastase, wenn man ihnen Stärke vorsetzt etc. Pilze bilden, wenn man sie auf Weinsäure und Stärke enthaltenden Nährböden cultivirt, erst dann Diastase, wenn die Weinsäure verbraucht ist. Allerdings findet sich in auf Glucoselösung gezüchteter Hefe trotzdem Invertase.[2]) Nach Auerbach[3]) bilden Bacterien, auf Glucose gezüchtet, keine proteolytischen Fermente, ebensowenig nach Fermi und Montisano[4]) Emulsin.

Nach van Tieghem[5]) greift der Bacillus Amylobacter nur dann Cellulose an, wenn man ihm keine andere Kohlenstoffquelle zur Verfügung stellt.

Ganz ähnlich verhalten sich Hefen, die man auch an Nährstoffe assimiliren kann, an die sie eigentlich nicht angepasst sind; sie „lernen“ es aber schliesslich, die passenden Enzyme zu produciren; besonders Dienert hat solche interessanten Versuche angestellt (s. b. alkoholische Gährung).

Ein analoges Beispiel aus der Thierwelt erwähnt Cl. Bernard.[6]) Die Larven der Musca lucilia, einer häufigen Fliege, enthalten viel Glycogen, aber kein Ferment, das es spaltet (Diastase). Sobald aber die Larven in das Stadium der Chrysaliden übergehen, wo sie das aufgespeicherte Glycogen verbrauchen, findet sich bei ihnen diastatisches Ferment.

Und nicht nur die Secretion von geeigneten Enzymen wird auf physiologische Reize hin ausgelöst, die Enzyme selbst werden den Anforderungen der Umgebung angepasst. So kommt es, dass die specifisch gleichwirkenden Enzyme der Organismen, die wir unter einem Gruppennamen zusammenfassen, sich doch bei verschiedener Provenienz als verschieden erweisen, besonders wenn die erzeugenden Organismen unter verschiedenen Bedingungen existiren. So zeigen die verschiedenen Invertasen, Maltasen, Emulsine doch beträchtliche Differenzen im Verhalten gegen Säuren, Alkalien, Salze, Gifte und

---

1) A. Mayer, Chem. Centrbl. 1900. I. 824.
2) s. d. z. B. Wortmann, Z. ph. Ch. VI. 305.
3) Auerbach, Centralbl. f. Bact. 2. Abth. Bd. IV.
4) Fermi und Montisano, Apoth. Ztg. **1894**. 533.
5) van Tieghem cit. n. de Bary, Vorlesgn.üb.Bacterien. Leipzig 1885. S. 65.
6) Cl. Bernard, Revue scientif. 1873. 515. cit. n. Schützenberger, l. c. S. 254.

Temperaturänderungen. Wir werden die Détails bei den einzelnen Fermenten besprechen: ich möchte hier nur zwei sehr characteristische Fälle anführen:

Das Pepsin des Warmblütermagens ist schon bei 10° unwirksam, während das des Frosches noch bei 0° wirksam ist.

Ganz analog hat die Invertase obergähriger Hefen, die also an relativ hohe Temperaturen angepasst sind, ein Wirkungsoptimum, das ca. 25° höher liegt, als das der untergährigen Hefen, also bei einer Temperatur, bei der diese Invertase schon ziemlich schnell zerstört wird.

Die Fermente werden indessen nicht nur dann gebildet, wenn wirklich Nährstoffe vorhanden sind, die dem Nahrungsbedürfniss abhelfen sollen, sondern auch, wenn zwar der physiologische Reiz der gleiche ist, indessen die Mittel zu seiner Befriedigung fehlen, also im Hungerzustand.

An Schimmelpilzen hat man vielfach beobachtet, dass sie besonders dann Fermente bilden, wenn man ihnen die Nährstoffe entzieht (Fernbach).[1] Sie brauchen diese allerdings auch, um die in ihren Zellen selbst aufgespeicherten Nährstoffe zu verwerthen, aber ihre Entstehung ist doch wohl im Allgemeinen auf die Gleichartigkeit der Veranlassung: Mangel an direct aufnahmefähiger Nahrung zurückzuführen. Sie entstehen also gewissermassen in Vorberechnung, um etwa neu eintreffende Nahrungszufuhr sofort verarbeiten zu können.

Auf dieselbe Weise ist auch zu erklären, dass die Verdauungsenzyme der höheren Thiere, besonders die des Magens und des Pancreas am reichlichsten längere Zeit nach der Mahlzeit oder in nüchternem Zustande in den Drüsen gefunden werden (Grützner, s. b. Pepsin etc.).

Wir sehen aus alle dem, eine wie eminente Rolle die Fermente im Lebenshaushalt der Organismen spielen und wir dürfen Nasse[2]) nur beipflichten, wenn er die Fermentprocesse als einen „wesentlichen Theil“ der Lebensvorgänge ansieht. Ihre Hauptfunction besteht in der Zugänglichmachung an sich unbrauchbarer Nährstoffe. Mag daneben noch, wie Chabrié[3]) meint, die Aenderung des osmotischen Druckes in den Säften, die bei der Aufspaltung und Vermehrung der Molecüle eintreten muss, eine Rolle spielen, sehr wesentlich ist sie demgegenüber nicht.

Jedoch muss ich hier nochmals betonen: so wesentlich die Pro-

1) Fernbach, Ann. Inst. Pasteur. 1890. 1.
2) Nasse, Pflüg. Arch. XI. 163.
3) Chabrié, C. R. soc. biol. 1898. 105.

cesse für den Lebensprocess sind, so haben sie doch eben nur unterstützende Bedeutung, ohne die der Organismus zwar nicht existiren kann, die man aber doch von den specifisch vitalen Vorgängen theoretisch streng sondern muss, da man ja dieselben Erscheinungen abseits vom Leben im Reagensglase hervorrufen kann. Trotz der biologischen Wichtigkeit der enzymatischen Vorgänge darf man sie doch nicht an sich als biologische betrachten, so wenig wie man den Kreislauf des Wassers, der ebenfalls eine biologische Grundbedingung für alle Organismen ist, als eine Erscheinung des Lebensprocesses ansprechen darf.

Verbreitung der Fermente in der Natur: Wir haben schon kurz auf die universelle Verbreitung der Fermente hingewiesen. In der That kann man sie im ganzen Organismenreich nachweisen, so dass man sie als eine ständige Begleiterscheinung des Lebens betrachten kann.

In den niedersten Organismen, den Bacterien, findet man Fermente der verschiedensten Art, besonders proteolytische und diastatische, seltener invertirende (Fermi).[1] In Fuligo septica fand Krukenberg proteolytisches Ferment; in Sprosspilzen finden sich sicher ausser der Zymase noch sämmtliche sacharificirenden Fermente, doch auch proteolytische. In Schimmelpilzen und auch höheren Pilzen sind zahlreiche Fermente, besonders durch die Arbeiten von Bourquelot und seinen Schülern entdeckt worden; in den Säften und Organen der höheren Pflanzen, Blättern, Blüthen etc. findet man sie nicht minder weit verbreitet.

In den Organen niederer Thiere sind sie besonders von Krukenberg systematisch aufgesucht worden, in Insecten sind sie von Basch, Erlenmeyer, Biedermann[1]) u. A. gefunden worden.

Die Fische hat wiederum Krukenberg auf Fermente untersucht und sie sowohl im Munde, als im Darm nachweisen können.

In Amphibien fanden Fick u. A. Fermente.

Am genauesten erforscht wurden natürlich die Fermente der Säugethiere. Bei ihnen fand man Fermente nicht nur in den eigens für ihre Production eingerichteten Organen, sondern weit im Körper, in allen Geweben und Gewebssäften verbreitet. Besonders den sacharificirenden Fermenten, Diastase etc. kommt eine fast ubiquitäre Gegenwart in den Geweben zu, da man sie nicht nur in Milz, Niere, Leber etc. fand, sondern auch im Blut, der Lymphe und den Secreten, im Harn, im Schweiss[2]) etc. Auch in pathologischen

---

1) Die Litteratur findet sich im speciellen Theil.

2) *Gaube, C. R. Soc. Biol. 1891. 115.

Bildungen, im Sputum Lungenkranker (Filehne), in Exsudaten (Eichhorst), in Cystenflüssigkeit (v. Jaksch) konnte man sie entdecken.

Auch im werdenden Organismus finden sie sich weit verbreitet. Die Fermente keimender Samen sind in ihrer biologischen Bedeutung schon erwähnt. Die Diastase der Gerstenkeimlinge war das erste überhaupt erkannte diastatische Ferment (Payen und Persoz). Später fand man in den Samen auch proteolytische (v. Gorup-Besanez) fettspaltende, glucosidspaltende und andere Fermente. Für das Hühnerei ist die Existenz proteolytischer und diastatischer Enzyme sehr wahrscheinlich.

Auch in thierischen und menschlichen Embryonen hat man Fermente gefunden. Langendorff[1]) hat diese Frage einer genauen Untersuchung unterzogen. Er fand sie bei allen untersuchten Säugethieren und Vögeln, doch zeigten sich characteristische Unterschiede. Während Trypsin bei allen sich sehr früh nachweisen lässt, fehlt vor der Geburt das Pepsin bei Fleischfressern völlig, bildet sich dagegen bei Pflanzenfressern relativ früh. Diastase findet sich früh bei Schwein, Ratte und Rind, fehlt aber vor der Geburt beim Menschen und Kaninchen. Das erste Auftreten von Fermenten überhaupt fand sich beim Schweineembryo bei einer Länge von 120 mm. Dahl[2]) hat für die Entwicklung der Pancreasfermente festgestellt, dass sich erst das Trypsin, dann die Lipase und zuletzt die Diastase bildet.

Schicksale der Fermente im Organismus: Die normalen Fermente des Organismus werden während ihrer Thätigkeit im Darm zum Theil resorbirt und gehen in geringen Mengen in den Harn über. Ein anderer Theil wird mit dem Kothe ausgeschieden. Indessen vertreten Gehrig[3]) und Schnappauf[4]) den Standpunkt, dass das fertige wirksame Pepsin nicht oder wenig in den Kreislauf gelange, dass es vielmehr direct aus der Drüse als Zymogen resorbirt würde. Ausserdem wird ein grosser Theil nicht ausgeschieden; also entweder im Organismus irgendwo zerstört oder in die secernirenden Drüsen zurückgeführt.

Man fand im Harn mit Sicherheit Pepsin, Diastase und Labferment; das Vorkommen von Trypsin unter normalen Bedingungen ist zweifelhaft.

---

1) Langendorff, Du Bois A. f. Phys. 1879. 95 (dort die gesammte ältere Litteratur). Weiteres s. a. im speciellen Theil.

2) Dahl, Diss. Dorpat 1890. c. n. Centralbl. f. Physiol. 1891. 309.

3) Gehrig, Pflüg. Arch. 38. S. 35 (1886).

4) Schnappauf, Beitr. z. Physiol. des Pepsins. Diss. Rostock 1888.

Ein grosser Theil der Fermente wird indessen schon im Verdauungscanal zum mindesten unwirksam gemacht; ob sie indessen zerstört werden, lässt sich mit voller Sicherheit nicht angeben.

Durch die Arbeiten von Langley[1]) ist nachgewiesen, dass die Speicheldiastase zwar noch eine gewisse Zeit im Magen wirksam bleibt, schliesslich aber völlig unwirksam wird. Das Pepsin und Lab des Magensaftes wird durch den alkalischen Darmsaft inactiv gemacht oder zerstört; es ist dies eine physiologische Nothwendigkeit, da sonst das Pepsin die Trypsinwirkung in hohem Maasse beeinträchtigen würde; Kühne schreibt auch den Gallensäuren eine wichtige Function bei der Unschädlichmachung des Pepsins zu und erklärt die Verdauungsstörungen bei Abschluss der Gallenwege gegen den Darm (Icterus etc. oder Fisteln) zum Theil durch Ausfall dieser Function.

Das Trypsin und die übrigen Darmfermente endlich sollen nach Langley durch die bei der Darmfäulniss entstehenden Säuren zerstört werden.

Indessen muss der Organismus auch Mittel haben, um die Fermente, die ihm auf ungewohntem Wege zugeführt werden, zu verarbeiten. Inwieweit sie zerstört werden, inwieweit andererseits sie nur inactivirt oder etwa ihrer physiologischen Function wieder zugeführt werden, lässt sich nicht übersehen.

Béchamps und Baltus[2]) machten nämlich die Beobachtung, dass intravenös injicirte Diastase nur zum Theil in den Harn übergeht.

Schnappauf[3]) konnte eine Vermehrung der normalen Pepsinmenge im Harn durch subcutane Injection von Pepsin nicht constatiren.

Hildebrandt[4]) konnte nachweisen, dass subcutan eingespritztes Emulsin überhaupt nicht durch den Harn ausgeschieden wird. Der Organismus zerstört also dieses ihm fremde Ferment vollkommen. Dadurch, dass zugeführtes Amygdalin Blausäurevergiftung erzeugt, solange Emulsin im Körper vorhanden ist, konnte Hildebrandt zeigen, dass noch 6 Stunden nach der Injection genügend wirksame Fermentmengen vorhanden waren, um eine Vergiftung des Versuchskaninchens zu erzielen. Er konnte ferner zeigen, dass das Ferment ins Blut übergeht, dort aber schneller vernichtet wird. Es fand sich

---

1) Langley, Journ. of Physiol. III. 246.
2) Béchamps und Baltus, C. R. 90. 373. 539.
3) Schnappauf, Beitr. z. Physiol. d. Pepsins. Diss. Rostock 1888.
4) Hildebrandt, Virch. A. 131. S. 12 (1893).

dann aber noch in Milz, Pancreas und besonders Leber wirksames Ferment, sowie besonders im Bindegewebe und den regionären Lymphdrüsen der Injectionsstelle. Das Ferment der parenchymatösen Organe wirkte nicht auf im Blute kreisendes Amygdalin, scheint also an die Zellen gebunden zu sein, was zur Erklärung der oben besprochenen Giftwirkungen der Fermente von grossem Interesse ist. Die in vitro constatirte schädliche Wirkung des Blutserums auf Fermente konnte Hildebrandt für das Labferment auch im lebenden Thier feststellen.

Aus alledem ergiebt sich, dass die Fermente unter allen Umständen zum grossen Theil im Organismus vernichtet werden.



Specieller Theil.

A. Die hydrolytischen Fermente.

Neuntes Capitel.

Die proteolytischen Fermente.

Die proteolytischen Fermente haben die Fähigkeit, Eiweissstoffe ohne Mitwirkung lebender Organismen in bestimmter Weise zu zerlegen und in einfachere Stoffe überzuführen. Ueber die Art und Weise dieser Processe kann man nichts Bestimmtes aussagen, da die Constitution nicht nur der genuinen Eiweissstoffe, sondern auch eines Theiles der Spaltungsproducte völlig dunkel ist. Man muss sich damit begnügen, die Endproducte dieser fermentativen Vorgänge zu isoliren und ihre chemische Natur soweit als möglich festzustellen.

Die proteolytischen Enzyme sind in drei Hauptgruppen gesondert. Die eine Gruppe von Enzymen, deren wichtigste Repräsentanten das dem Magen der Wirbelthiere eigenthümliche Pepsin und die ihm analogen Fermente sind, wirken weniger energisch auf das Eiweissmolecül ein; sie führen zu Stoffen von noch unbekannter Natur, den Albumosen und Peptonen. Sie sind meist nur in schwach saurer Lösung wirksam. Die Enzyme der zweiten Hauptgruppe, vom Trypsin repräsentirt, und auch in neutraler oder schwach alkalischer Lösung wirksam, bauen das Eiweissmolecül in sehr energischer, der Spaltung mit starken chemischen Agentien ungefähr entsprechender Weise ab; es entstehen dabei relativ einfache, zum grossen Theil in ihrer chemischen Constitution bekannte und synthetisch hergestellte, meist stickstoffhaltige Stoffe, namentlich Amidosäuren und basische Körper, die sog. Hexonbasen. Eine Untergruppe dieser proteolytischen Fermente steht in der Mitte zwischen den beiden; ihr wichtigster Repräsentant ist das Papaïn. Die dritte Gruppe der eiweissverwandelnden Fermente sind die wahrscheinlich ebenfalls hydrolytisch wirkenden coagulirenden Enzyme, zu denen das Labferment, sowie das hypothetische Fibrinferment gehören. Den coagulirenden Fermenten schliesst sich auch die wenig erforschte Pectase an. Die proteolytischen Fermente spielen naturgemäss im Stoffwechsel der Thiere und

auch der Pflanzen eine grosse Rolle. Bei den Thieren sind sie ein Secret der Verdauungsdrüsen; sie finden sich demgemäss in den Säften des Digestionstractus, und zwar haben die Fermente vom Pepsintypus, die peptischen Fermente, im Magen ihren Ort und dort gewissermassen die Vorarbeit zu leisten, während späterhin die tryptischen Fermente des Pancreas die weitere Spaltung im Darm übernehmen. Im Uebrigen zeigen die neueren Untersuchungen, dass den proteolytischen Enzymen eine ungemein grosse Verbreitung nicht blos im Thierreich, sondern auch im Pflanzenreich zukommt.

Nach Fermi[1]) soll das Pepsin, das phylogenetisch später auftritt als das Trypsin, nur eine durch die Acidität des Mediums bedingte Modification des letzteren sein. Dagegen spricht indessen nicht nur die so total verschiedene Wirksamkeit, sondern nach den spärlichen Angaben auch die stoffliche Verschiedenheit beider Fermente.

Im Uebrigen sollen sie nur auf totes Protoplasma wirken, lebende Zellen dagegen unversehrt lassen. Fermi[1]) giebt an, dass lebende Amöben, Schizomyceten und Pilze von Pepsin nicht angegriffen würden. Er glaubt in dieser Resistenz des lebenden Protoplasmas gegen Verdauungsfermente den Grund dafür zu finden, dass die lebende Magenschleimhaut sich nicht selbst verdaut, während nach dem Tode sogleich die Selbstverdauung beginnt. Aus dieser Ansicht heraus setzt er auch naturgemäss den Angaben von Hildebrandt und Kionka von der deletären Einwirkung der Fermente auf lebendes Gewebe (siehe im Allgemeinen Theil) energischen Widerspruch entgegen, doch scheinen die ersteren im Recht und die Fermente wirklich heftige Protoplasmagifte zu sein, womit auch die Fermi'sche Theorie der Resistenz der lebenden Schleimhaut gegen Pepsin schwer erschüttert erscheint.

Das Pepsin: Dass dem Magen eine bedeutende Rolle bei der Verdauung zufällt, war schon den alten Aerzten bekannt; schon frühzeitig hatte man auch angenommen, dass nicht die Säure des Magens allein hinreicht, um die Nährstoffe zu verdauen, sondern dass dabei noch ein „Ferment“, ein dem wirksamen Princip der Gährung ähnlicher Stoff, mitwirke (van Helmont).[2]) Die Bedeutung des Magensaftes und der Drüsen des Magens erkannte klar zuerst Borelli. Réaumur[3]) stellte dann fest, dass die Magenverdauung von der mechanischen Kraft des

---

1) Claudio Fermi, Arch. ital. d. Biolog. 1895. S. 433. s. a. Centralbl. f. Physiol. VIII. 657. IX. 57 (1895).

2) Ueber die ältere Litteratur zur Kenntniss der Magenverdauung s. u. a. Gamgee, Physiologische Chemie der Verdauung, übers. von Asher u. Beyer, Leipzig u. Wien. 1897. S. 61 ff.

3) Réaumur, Mém. de l'Acad. des Sciences 1752. S. 461.

Magens unabhängig sei, vielmehr die Nährstoffe einer chemischen Umwandlung durch den Magensaft unterliegen und constatirte die Wirkungslosigkeit des Magensaftes auf pflanzliche Nahrungsmittel. Es folgten dann die classischen Untersuchungen von Spallanzani,[1] der den Unterschied zwischen den Gährungs- und Fäulnisserscheinungen und der Magenverdauung klar zum Ausdruck brachte, und der zuerst mit Magensaft ausserhalb des Körpers Verdauungsvorgänge demonstriren konnte. Damit beginnt also eigentlich die Geschichte des peptischen Fermentes, die sich nun in engem Zusammenhang mit der Geschichte der Magenverdauung überhaupt fortentwickelt. Beaumont untersuchte die Vorgänge im Magen an der Hand eines Falles von traumatischer Magenfistel, Prout und Tiedemann und Gmelin entdeckten unabhängig die Salzsäure im Magen.

Einen wichtigen Schritt zur Auffindung des Fermentes that Eberle,[2] der zuerst künstlichen Magensaft darstellte, und gab damit Veranlassung zu der classischen Arbeit Schwann's,[3] der die Magenverdauung auf ein Ferment zurückführte, dem er den Namen Pepsin gab. Er zeigte, dass dieses Ferment nicht, wie Eberle angenommen hatte, dem Schleim angehöre und also an allen Schleimhäuten sich finde, sondern dass es ausschliesslich ein Product der Magenschleimhaut ist. Das Ferment selbst zu isoliren, gelang Schwann nicht; es ist auch bis jetzt noch nicht gelungen, das Pepsin als chemisch reinen Körper zu isoliren, so dass man seine Eigenschaften nur an annähernd reinen Präparaten studiren kann. Schwann selbst hat durch Ausfällen mit Quecksilberchlorid und Zerlegen des Niederschlages ein pepsinhaltiges Präparat gewonnen; Wasmann[4] erzielte durch ein ähnliches Verfahren und Fällung des Filtrates mit Alkohol ein festes, wirksames Präparat. Auf einer Fällung durch Niederreissen mit frisch gefälltem phosphorsaurem Kalk, Wiederlösung, Ausfällen durch Cholesterin und Auflösen des Cholesterins in Aether erzielte Brücke[5] eine Pepsinlösung, die ebenfalls nicht rein war. Später benutzte v. Wittich[6] die Eigenschaft der meisten Enzyme, in Glycerin löslich

1) Spallanzani, Versuche üb. d. Verdauungsgeschäft. Deutsch von Michaelis. Leipzig 1785.

2) Eberle, Physiolog. d. Verdauung auf natürlichem und künstlichem Wege. Würzburg 1834.

3) Schwann, Müller's Archiv 1836. S. 90. s. a. Joh. Müller u. Schwann ibid. S. 66 und die dort citirte Diss. von Gerson. Berlin 1835. De Chymificatione arteficiosa.

4) Wasmann, de digestione animali. Diss. Berlin 1839. Wörtlich citirt in Hermann's Handbuch d. Physiol. V. Theil. II. S. 44.

5) Brücke, Vorlesg. üb. Physiol. 1874. Bd. I. S. 294.

6) v. Wittich, Pflüg. A. II. 193, III. 339.

zu sein, zur Darstellung von Pepsinlösungen, aus denen er das Pepsin durch Alkohol fällen konnte. Zur Reinigung benutzte er auch nach dem Vorgang von Krassilnikoff die Dialyse,[1]) da Pepsin nicht durch thierische Membranen und Pergamentpapier diffundirt. Um die Fäulniss zu vermeiden, muss man Thymol zusetzen oder die dialysirte Flüssigkeit sauer erhalten. Ebenfalls durch Fällung mit phosphorsaurem Kalk und Dialyse stellte Maly[2]) eine Pepsinlösung dar. Andere Methoden rühren von Lehmann,[3]) C. Schmidt,[4]) Frerichs[5]) u. A. her. Durch einfaches Abkühlen von Magensaft auf 0° gewann Frau Schoumow-Simanowski[6]) ein festes Product, das ein jedenfalls sehr stark mit Eiweissstoffen verunreinigtes Pepsin darstellt. Auf ähnlichem Wege, durch Dialysiren frischen Magensaftes, erhielt Pekelharing[7]) einen nucleoproteidähnlichen Körper, der sehr wirksames Pepsin darstellen soll. Er spaltet sich in einen phosphorhaltigen und einen Eiweisskörper. Pekelharing glaubt dem reinen Pepsin eine nucleoproteidähnliche Natur zuschreiben zu dürfen.

Secretion des Pepsins: Ueber die Frage des Entstehungsortes des Pepsins ist viel gestritten worden. Es handelte sich hauptsächlich um die Fragen, ob nur die Fundusdrüsen des Magens Pepsin liefern oder auch die sog. Schleimdrüsen des Pylorus; fernerhin welche Zellen der Fundusdrüsen der Ort der Pepsinbildung sind. Die eine Reihe von Forschern vertrat die Ansicht, dass die Hauptzellen der Fundusdrüsen den Schleimdrüsen physiologisch homolog seien, beide die Pepsinsecretion besorgten, während den Belegzellen nur die Säureproduction zuertheilt ist. (Heidenhain,[8]) Fick,[9]) besonders aber Ebstein[10]) und seine Schüler.) Die Anderen hingegen sahen die Belegzellen als Sitz der Pepsinbildung an (Edinger[11]) bei Fischen, Nussbaum)[12]) oder leugneten wenigstens den Antheil der Pylorusdrüsen

---

1) v. Wittich, ib. V. 435.
2) Maly, Pflüg. A. IX. S. 592.
3) Lehmann, Ber. d. sächs. Ges. d. Wiss. 1849. S. 10.
4) Bidder u. Schmidt, Verdauungssäfte. S. 45.
5) Frerichs, Verdauung. III. S. 782. cit. n. Brücke, l. c.
6) Schoumow-Simanowski, A. exp. Path. 33. 336.
7) Pekelharing, Z. f. phys. Ch. 22. 1896/97.
8) Heidenhain, A. f. mikr. Anatomie. VI. S. 368.
9) Fick, Verh. d. Würzb. Phys. Med. 1872. S. 121.
10) Ebstein, A. f. mikr. Anat. VI. S. 515. Brunn u. Ebstein, Pflüg. A. III. 565. Ebstein u. Grützner, Pflüg. A. VI. 1, ibid. VIII. 122, 617, XVI. 105.
11) Edinger, A. f. mikr. Anat. XIII. 651.
12) Nussbaum, A. f. mikr. Anat. XIII. 721, XV. 119, XVI. 532.

(Kölliker,[1]) Donders,[2]) Friedinger,[3]) Wolffhügel,[4]) vor allem aber v. Wittich).[5]) Nussbaum (l. c.) gab zwar zu, dass auch die Pylorusgegend Pepsin produciren könne, dass dann aber auch dort vorkommende Belegzellen die Pepsinbildner seien. Er wies ferner darauf hin, dass bei winterschlafenden Thieren die Belegzellen zum Theil verschwinden, wenn die Verdauung sistirt. v. Wittich hatte zuerst aus der Pylorusgegend einen unwirksamen Glycerinextract erhalten und als dann Ebstein nachwies, dass auch die Pylorusgegend allein einen pepsinhaltigen Saft liefert, da wandten Wittich und seine Mitarbeiter ein, dass der Pylorustheil nicht an sich Pepsin enthalte, sondern von den Fundusdrüsen her damit imbibirt sei; und dass es auf diese Weise in den Auszügen aus dem Pylorustheil in die Erscheinung trete. Ganz sicher entschieden ist die Frage auch heute noch nicht, obwohl viel für die Ebstein'sche Anschauung spricht. Wichtiges Material lieferte die Untersuchung der Magen bei Fröschen. v. Swiecicki[6]) fand, dass hier das Pepsin hauptsächlich in der Speiseröhre von Drüsen gebildet wird, die den Hauptzellen des Magens ähnlich sind,[7]) während im Magen selbst von den Belegzellen ähnlichen Drüsen ein saures Secret geliefert wird, was allerdings von Fränkel[8]) bestritten wird. Sewall[9]) fand bei jungen Schafembryonen nur Belegzellen in den Fundusdrüsen, und kein Pepsin; erst später dort auch Hauptzellen, dann auch Pepsin, allerdings nimmt er trotzdem an, dass der Pylorus kein Pepsin producirt. Klemensiewicz[10]) gelang es mit Hilfe einer Operation, vom lebenden Thier reinen Pylorussaft zu erzielen, der alkalisch reagirte und nach dem Ansäuern mit Salzsäure peptische Wirkungen zeigte. Heidenhain[11]) hat diese Resultate bestätigt, desgleichen Åkermann,[12]) während Contejean[13]) sie bestritt.

---

1) *Kölliker, cit. n. Ebstein, l. c.
2) Donders, Physiol. 1856. S. 208.
3) Friedinger, Sitzb. d. Acad. d. Wiss. Wien 1871. S. 325.
4) Wolffhügel, Pflüg. A. VII. 188.
5) v. Wittich, Pflüg. A. V. S. 434, VII. 18, VIII. 444.
6) v. Swiecicki, Pflüg. A. XIII. S. 444 (1876).
7) s. a. Partsch, A. f. mikr. Anat. XIV. 195.
8) Fränkel, Pflüg. A. 48. 63.
9) Sewall, Journ. of physiol. I. 321.
10) Klemensiewicz, Sitzb. d. Acad. d. Wiss. Wien. Bd. 71. III. Abth. S. 249.
11) Heidenhain, Pflüg. A. XVIII. S. 169.
12) Åkermann, Skand. Arch. f. Physiol. V. 134 (1895).
13) Contejean, A. d. physiol. [5] 4. 554.

Schliesslich wäre noch zu erwähnen, dass nach Fick[1]) und Nussbaum[2]) das Pepsin der Pylorusgegend sich abweichend von dem der grossen Curvatur verhalten soll, nämlich weit mehr „Parapepton" (s. u.) bildend, analog dem Isopepsin von Finkler (s. u.).

Die Pepsinsecretion des Magens ist durchaus nicht constant, sondern schwankt beträchtlich.

Sie hängt auch normaler Weise von der Nahrungsaufnahme ab; besonders aber ist der Grad der Umwandlung von Pepsinogen in actives Ferment bedingt durch die Acidität des Magensaftes.

Roth[3]) unterscheidet eine Hyperpepsie, bei der abnorm hohe Fermentmengen auftreten, von der Hypopepsie, bei der das Ferment sehr spärlich vorhanden ist. Erstere fand er besonders bei Ulcus ventriculi, letztere bei Carcinom und chronischer Gastritis.

Pepsinogen: Dass das eigentliche Secret der Magendrüsen nicht das Pepsin selbst, sondern eine labile Vorstufe desselben ist, hatten schon Ebstein und Grützner[4]) wahrscheinlich gemacht. Sie fanden, dass diese Vorstufe nicht von Glycerin extrahirt wurde, so dass Glycerinextracte der Magenschleimhaut weniger wirksam waren, als solche mit verdünnter Salzsäure, die dieses Pepsinogen in Pepsin überführt. Etwas Aehnliches fanden Chapoteaut[5]) und Pódwissotzki.[6])

Langley[7]) hat dann den bindenden Nachweis geführt, dass ein solches Zymogen thatsächlich existirt, und dass es in den Körnchen der Hauptzellen direct sichtbar ist; dass ferner die Magendrüsen während des Lebens kein Ferment, sondern nur das Zymogen enthalten. Beide unterscheiden sich wesentlich in ihrem Verhalten gegen verdünnte Alkalien und Kohlensäure (s. u.). Verdünnte Säuren und Einleiten von Kohlensäure führen das Pepsinogen sehr schnell in Pepsin über.

Béchamps[8]) sieht in diesen Körnchen seine merkwürdigen „Mikrozymata", die er für organisirte Gebilde hält und wegen derer auf seine Originalarbeiten verwiesen werden muss.

Langley und Edkins[9]) haben dann später eine Methode zur Trennung von Pepsin und Pepsinogen angegeben.

---

1) Fick, Verh. Phys. Med. Ges. Würzburg. N. F. II. 122 (1872).
2) Nussbaum, Arch. f. mikr. Anat. XIII. 721ff.
3) Roth, Z. f. klin. Medic. 39. 1 (1900).
4) Ebstein u. Grützner, Pflüg. A. VIII. S. 127.
5) Chapoteaut, C. R. 94. 1722 (1882).
6) Pódwissotzki, Pflüg. A. 39. 62.
7) Langley, Journ. of physiology. III. 269.
8) Béchamps, Comptes rendus 94. (1882) SS. 582, 879, 970. s. a. Gaut ibid. S. 652.
9) Langley und Edkins, Journ. of physiol. VII. 371.

Pepsine finden sich im Magen fast aller Wirbelthiere; nur bei einigen Fischen hat man sie vermisst. Ueber die Verdauung der Fische liegen Untersuchungen von Krukenberg[1]) und Richet[2]) vor. Krukenberg fand im oberen Darmabschnitt mehr Pepsin, im unteren mehr trypsinähnliche Absonderungen.

Bei einigen Pflanzenfressern, z. B. dem Kaninchen, findet es sich schon im Fötalleben, bei Fleischfressern dagegen fehlt es bei der Geburt.

Bei Wirbellosen fand man ebenfalls pepsinähnliche Enzyme. Basch[3]) hat ein ganz ähnlich wirkendes Product in den Speicheldrüsen der gewöhnlichen Küchenschabe, Blatta orientalis, gefunden.

Krukenberg[4]) hat zahlreiche Avertebraten der verschiedenen Classen in Bezug auf Verdauungsenzyme untersucht. Er vermisste sie völlig nur bei Coelenteraten, fand sie sonst meist (Zusammenfassung l. c. S. 363). Er fand auch Pepsin im Eidotter,[5]) in dem man schon vorher Peptone gefunden hatte.

Ueber die Verdauung der Insecten haben besonders Plateau, Frenzel, Jousset de Bellesme, Bouchardat,[6]) Hayer[7]) gearbeitet. Eine genaue Untersuchung über die Verdauungsenzyme von Tenebrio molitor (Mehlwurm) hat Biedermann[6]) angestellt.

Ausserhalb des Magens hat man Pepsin nachweisen können in den Brunner'schen Drüsen (Grützner),[8]) dagegen fehlen proteolytische Fermente der Darmschleimhaut völlig.[9]) Man fand es ferner im Harn (Brücke,[10]) Poehl),[11]) der es nur im schleimhaltigen

1) Krukenberg, Unters. a. d. physiol. Inst. Heidelberg 1882. II. S. 385.

2) Richet, Archives de physiol. X (1882). S. 536.

3) Basch, Sitzb. Wiener Acad. 33 (1858). Math. Nat. Cl. 255.

4) Krukenberg, Unters. a. d. physiol. Inst. Heidelberg. Bd. II. S. 1; 37, 261, 338, 366, 402.

5) Krukenberg, ibid. 273.

6) Biedermann, Pflüg. Arch. 72. 160; dort die Citate.

7) Hayer, Note additionelle sur l. digest. chez les ins. Bruxelles 1877. Z. phys. Ch. II. S. 208.

8) Grützner, Pflüg. Arch. XII. S. 288.

9) s. von neueren Arbeiten Wenz, Z. f. Biol. XXII. 1. Pregl, Pflüg. A. 61. 359; vgl. Gamgee, Phys. Chem. d. Verdauung S. 422.

10) Brücke, Vorlesg. üb. Physiol. 1874. Bd. I. S. 295.

11) Poehl, Ueb. das Vork. u. d. Bildg. des Peptons ausserhalb des Verdauungsapparats etc. Diss. Dorpat 1882. Biol. Centralbl. III. 252. s. a. B. d. d. chem. Ges. XIV. 1355.

Harn fand, Tasulli,[1]) Grützner,[2]) Sahli,[3]) Gehrig,[4]) Stadelmann,[5]) Hoffmann,[6]) Bendersky,[7]) in pathologischen Harnen Mya und Belfanti;[8]) ferner in den Muskeln (Brücke), im Speichel (Munk)[9]) u. s. w.

Bei Erkrankungen des Digestionstractus soll es im Harn fehlen (Leo).[10]) Im Schweiss fand es Bendersky[7]) neben Diastase, Trypsin soll fehlen. Peptonisirende Agentien, die vielleicht auf ein pepsinähnliches Ferment zurückzuführen sind, fand Poehl[11]) in der Niere, der Lunge, weniger im Darmgewebe. In dem nach der Buchnerschen Methode erzielten Presssaft aus Lebergewebe fanden ein proteolytisches Ferment Hahn und Geret,[12]) doch ist es fraglich, ob man dies nicht eher den trypsinähnlichen Fermenten zuschreiben muss.

Eigenschaften des Pepsins: Die verschiedenen Präparate, die unter dem Namen „Pepsin" in den Handel kommen, sind je nach ihrer Provenienz und Darstellung sowohl in ihren Eigenschaften, wie in ihrer Wirksamkeit verschieden.

Konowaloff[13]) hat die verschiedenen Handelspepsine auf ihre Wirksamkeit im Vergleich zu reinem Hundemagensaft geprüft. Eine weitere Untersuchung der Handelspepsine (28) ist von Venturini und Cotta[14]) angestellt worden.

Doch hat es den Anschein, als ob die Fermente, abgesehen von dem Grade ihrer Reinheit, nicht nur bei verschiedenen Thierpecies, sondern auch bei demselben Thiere sich verschieden verhalten, namentlich auch ihre Wirksamkeit in verschiedenen Säuren. Am wirksamsten ist das Pepsin des Hundes (Klug,[15]) Wróblewski).[16]) Ferner giebt Fick[17])

---

1) Tasulli, Maly's Jb. 1894. S. 289.
2) Grützner, Breslauer ärztl. Ztschr. 1882. 17.
3) Sahli, Pflüg. Arch. 36. S. 209.
4) Gehrig, ibid. 38. 35 (1886).
5) Stadelmann, Z. f. Biol. 24. 266.
6) Hoffmann, Pflüg. Arch. 41. 148.
7) Bendersky, Virch. A. 121. 554.
8) Mya und Belfanti, Gazeta degli Ospitali. 1886. S. 3. cit. n. Centralbl. f. klin. Medicin. 1886. 449. 729.
9) *Munk, Verh. d. physiol. Ges. Berlin. 24. Nov. 1876.
10) Leo, Pflüg. Arch. Bd. 37.
11) Poehl, Ueb. das Vork. u. d. Bildg. des Peptons etc., s. vor. S. Anm. 11.
12) Hahn und Geret, Ber. d. d. chem. Ges. 31. 2335 (1898).
13) Konowaloff, Maly's Jb. 1894. S. 289; nach einer Diss. Petersburg 1893.
14) Venturini u. Cotta, Bollet. Chim. Farm. 39. Chem. Centralbl. 1900. I. S. 619.
15) Klug, Pflüg. A. 60. S. 43 (1895).
16) Wróblewski, Z. f. physiol. Ch. 21 (1895).
17) Fick, Verh. d. Würzb. Phys. med. Ges. 1873. S. 121.

nach Versuchen von Murisier an, dass das Pepsin des Frosches schon bei 0° wirksam ist, während das der Warmblüter unterhalb 10° keine Wirksamkeit entfaltet. Nach neueren Versuchen von Klug[1]) ist jedoch auch Warmblüterpepsin noch bei 0°, wenn auch schwach, wirksam.

Eigenschaften des Pepsins und Pepsinogens: Das Pepsin, das wie oben erwähnt, in reinem Zustande noch nicht bekannt ist, ist ein hochmolecularer, den Eiweissstoffen nahestehender Körper von völlig unbekannter chemischer Constitution.

Eine Analyse des Pepsins liegt vor von Schmidt[2])

$$C = 53{,}0\%, \quad N = 17{,}8\%,$$
$$H = 6{,}7\%, \quad O = 22{,}5\%.$$

Es zeigt im Übrigen die gewöhnlichen Eigenschaften eines Enzyms. In seinem bisher reinsten Zustande stellt es eine weisse, oder leicht gelbliche amorphe Masse dar. Es ist löslich in Wasser, verdünnten Salzlösungen, verdünnten Säuren und Glycerin; wird aus seinen Lösungen durch einen Ueberschuss von Alkohol gefällt.

Eine Lösung von Brücke's Pepsin (s. o.) giebt keine Fällung mit den üblichen Eiweissreagentien, wie Platinchlorid, Quecksilberchlorid, Gerbsäure, Salpetersäure, dagegen mit neutralem und basischem Bleiacetat. Sie giebt eine schwache Xanthoproteïnreaction. Auch Sundberg[3]) konnte in seinem Pepsinpräparat keine Eiweissreactionen mehr auffinden, vgl. indessen Pekelharing (s. o.).

Erwärmen seiner Lösung auf 55—57° vernichtet die Wirksamkeit, wie bei allen Enzymen, s. u. a. Mayer;[4]) Salzsäure, gewisse Salze, sowie Peptone verschieben den Zersetzungspunkt nach oben.[5]) In trockenem Zustande verträgt es Erhitzen auf 100°.

Ferner will Finkler[6]) durch vorsichtiges Erwärmen auf 60° eine Umwandlung des Pepsins in Isopepsin erzielt haben, das bei der Eiweissverdauung grössere Mengen von „Parapepton" (Antialbuminat, s. u.) liefert, als Pepsin. Es handelt sich wohl um eine unvollständige Zerstörung des Pepsins.

Es ist absolut nicht diffusibel durch Pergamentpapier (Hammar-

1) Klug, Pflüg. A. 60. S. 65.
2) Bidder u. Schmidt, Verdauungssäfte. Mitau u. Leipzig. 1852. S. 46.
3) Sundberg, Z. phys. Ch. IX. 319.
4) Mayer, Z. f. Biol. XVII. 351 (1881).
5) Biernacki, Z. f. Biol. 28. S. 62.
6) Finkler, Pflüg. A. XIV. 128.

stén,[1]) Wolffhügel),[2]) dagegen durch Papier de la Rue (Fermi und Pernossi).[3])

Wie die meisten Enzyme wird es durch ausfallende Niederschläge, besonders von Eiweissfällungen, aber auch z. B. durch phosphorsauren Kalk mitgerissen (Brücke).[4])

Es bindet sich an Salzsäure zu einer lockeren Verbindung (v. Wittich).[5])

Ebenso wird es von Fibrin gebunden, so dass es aus diesem durch Glycerin nicht wieder extrahirt werden kann (v. Wittich, Ebstein und Grützner).[6]) Diese leichte Bindung wurde dazu benutzt, um sehr geringe Pepsinmengen, z. B. im Harn nachzuweisen.

Gegen Alkalien ist Pepsin sehr empfindlich. Herzen[7]) giebt an, dass Alkalien es unwirksam machen, aber Kohlensäure die Wirksamkeit wiederherstellt, was indessen von Fermi und Pernossi[3]) geleugnet wird. Nach Kühne[8]) und Langley[9]) wird durch eine 0,5 bis 1% Sodalösung Pepsin sehr schnell zerstört, während das Pepsinogen ziemlich beständig dagegen ist, oder besser gesagt, viel langsamer vernichtet wird. Trypsin greift nach Kühne[10]) in neutraler Lösung das Pepsin nicht an. Langley[11]) findet, dass Trypsin die Zerstörung des Pepsins durch Alkalien beschleunigt; es wirkt auch auf Zymogen; ähnlich äussert sich auch Mees.[12])

Das Pepsin des Frosches ist widerstandsfähiger. Durch Anwesenheit von Eiweissstoffen wird die Vernichtung des Pepsins verzögert. Auch durch Kohlensäure wird es allmählich zerstört. Pepsinogen ist ebenfalls in Wasser und Salzlösungen löslich, weniger leicht in Glycerin, wenn dies nicht viel Wasser enthält. Es verliert auch bei ca. 55° seine Wirksamkeit. Verdünnte Säuren und Kohlensäure führen es schnell in Pepsin über. Gewisse Salze beschleunigen diese Zersetzung, Albuminstoffe und besonders Peptone verzögern sie.

---

1) Hammarstén, Maly's Jb. III. 160.
2) Wolffhügel, Pflüg. A. VII. 188.
3) Fermi u. Pernossi, Z. f. Hyg. XVIII. S. 105. 111.
4) Brücke, Vorlesg. üb. Physiol. 1874. I. S. 294.
5) v. Wittich, Pflüg. A. V. 203.
6) l. c.
7) Herzen, Annali di chim. e farm. VIII. 304 (1888).
8) Kühne, Verh. naturh. med. V. Heidelberg 1877. S. 193.
9) Langley, Journ. of phys. III. 246.
10) Kühne, l. c.
11) Langley, l. c.
12) Mees, Maly's Jb. 1885. 269.

Die Wirkung des Pepsins.

I. Methoden zur Erkennung und Bestimmung der Wirksamkeit.

Zur Erkennung des Pepsins haben wir kein anderes Mittel als die Prüfung seiner Wirksamkeit auf Eiweisskörper. Man lässt verdünnte Pepsinlösung in 0,1 — 0,2 procentiger Salzsäure auf Fibrin oder Hühnereiweiss einwirken und constatirt dann Arrosion (Andauung) des Eiweisses resp. Auflösung und weist eventuell im Filtrat die Spaltproducte nach.

Um die Wirksamkeit des Pepsins quantitativ zu ermessen, wägt man entweder nach bestimmter Einwirkungsdauer die Menge des unverdauten Eiweiss zurück (Bidder und Schmidt)[1]) oder man bedient sich der Methode von Grünhagen.[2]) Dieser liess Fibrin sich mit Pepsinsalzsäure vollsaugen und brachte die Masse auf ein Filter. In dem Maasse, wie sich das Fibrin verflüssigt, fallen unten die Tropfen aus dem Trichter und die Zahl der in bestimmter Zeit fallenden Tropfen giebt ein Maass für die Pepsinwirkung.

Eine geistvolle Modification dieser Methode, die sie namentlich zur Demonstration für die Vorlesung geeignet macht, gab Grützner[3]) an. Er färbt das auf das Filter zu bringende Fibrin vorher mit Carmin, so dass dann die durchlaufende Flüssigkeit, da das Pepsin mit dem Fibrin den rothen Farbstoff zur Lösung bringt, sich röthlich färbt. Die Brauchbarkeit dieser Methode zu quantitativen Zwecken wird von Klug[4]) bestritten, der dafür eine spectrophotometrische Prüfung der Intensität der Biuretreaction vorschlägt. Mette[5]) hat dann diese Methode modificirt. Schütz[6]) bestimmt die Peptone polarimetrisch, Schiff[7]) durch das specifische Gewicht ihrer Lösungen.

Mett[8]) bringt kleine, mit coagulirtem Eiweiss gefüllte, 1—2 mm dicke Glasröhrchen in die zu untersuchende Flüssigkeit, lässt 10 Stunden im Brutofen stehen und misst die Länge des verbrauchten Eiweisscylinders.

II. Beeinflussung durch äussere Factoren.

Die Resultate der Untersuchungen, soweit sie die Wirksamkeit des Pepsins betreffen, sind folgende:

---

1) s. Ebstein u. Grützner, Pflüg. Arch. VI. S. 1.
2) Grünhagen, Pflüg. Arch. V. S. 203.
3) Grützner, Pflüg. Arch. VIII. 452.
4) Klug, Pflüg. Arch. 60. S. 43.
5) *Mette, Arch. des scienc. biolog. 1894. I. S. 142 (mir nicht zugänglich).
6) Schütz, Z. ph. Ch. IX. 577.
7) Schiff, Leç. de physiol. de la digestion. Berlin 1867. I. 402.
8) Mett, Diss. Petersburg 1889. cit. n. Roth, Z. f. klin. Med. 39. 1 (1900).

Das Pepsin wird während der Verdauung nicht verbraucht, nimmt aber auch nicht an Menge zu (Brücke).[1])

Die verdauende Kraft des Magensaftes nimmt mit steigendem Pepsingehalt zu (Brücke,[2]) Maly,[3]) Ellenberger und Hofmeister,[4]) Klug);[5]) doch nur bis zu einer gewissen Grenze (0,1 Proc.). Darüber hinaus ist ein Ueberschuss von Pepsin ohne Wirkung. Croner[6]) findet bei geringen Pepsinmengen, dass starke Verdünnung schwächend wirkt; Mayer,[7]) dass die Verdauungszeit nicht der Menge des Pepsins umgekehrt proportional ist, aber doch dadurch beeinflusst wird. Die Angaben über das Verhältniss der Temperatur zur Wirksamkeit schwanken; doch wird allgemein 40^0 als das Optimum angenommen. Es wirkt in allen Säuren, doch muss der Concentrationsgrad desselben verschieden sein, um gleiche Wirkungen herbeizuführen (Davidson und Dieterich).[8]) Die wirksamste Säure soll Oxalsäure sein (Wróblewski),[9]) doch sind die Angaben darüber ausserordentlich schwankend; fast jeder Untersucher findet eine andere Reihenfolge. Im Allgemeinen ist man darüber einig, dass Salzsäure und Milchsäure gut, Essigsäure sehr schlecht brauchbar sind;[10]) am schlechtesten ist Propionsäure, nach Stutzer,[11]) der dagegen Aepfelsäure und Ameisensäure sehr wirksam fand. Borsäure ist ohne Einfluss (Hehner).[12]) Für Salzsäure ist die beste Concentration 0,5 — 0,6 Proc. (Klug).[5])

Hindernd auf die Pepsinverdauung wirken gewisse Salze, namentlich Kochsalz[13]) und Ammoniumsulfat (Grützner,[14]) A. Schmidt,[15]) Klug,[5]) Mann);[16]) Chloroform (Bertels)[17]) aber nur in grösseren

1) Brücke, Sitzb. d. Kais. Akad. d. Wiss. Wien. Bd. 37. S. 131.

2) Brücke, Vorlesg. über Physiol. Bd. I. S. 289.

3) Maly, in Hermann's Handbuch d. Physiol. V. II. 83.

4) Ellenberger u. Hofmeister, Arch. f. wiss. u. pract. Thierheilk. (1883). IX. S. 185.

5) Klug, Pflüg. A. 60. S. 52. ibid. 65. 330.

6) Croner, Virchow's Arch. 150. S. 260.

7) Mayer, Z. f. Biol. XVII. 351 (1881).

8) Davidson und Dieterich, Müller-Reichert's Arch. f. Physiol. 1860. S. 690.

9) Wróblewski, Z. f. physiol. Ch. 21. S. 1.

10) Man findet die Litteratur darüber, soweit sie hier nicht angegeben ist, bei Klug jun., Pflüg. A. 65. 330.

11) Stutzer, Landwirthsch. Versuchsstat. 38. 257 (1891). vgl. indessen Nékám, Maly's Jb. XX. S. 250, der das Gegentheil behauptet.

12) Hehner, Analyst. XVI. 126 (1891).

13) Dies wird aber wieder von Stutzer bestritten. l. c. S. 262.

14) Grützner, Pflüg. A. XII. S. 280.

15) A. Schmidt, Pflüg. A. XIII. S. 93.

16) Mann, Diss. Erlangen 1897.

17) Bertels, Virch. A. 130. 497.

Dosen, während kleine Mengen fördernd wirken (Dubs).[1] Aehnlich Alkohol, der in geringerer Concentration (bis 10 Proc.) gleichgiltig ist, während in 20procentiger Lösung jede Verdauung aufhört. Dagegen wirkt Bier schon unter 3 Proc. alkoholischer Mischung stark hindernd, was nicht dem Hopfen zuzuschreiben ist, desgleichen Wein (Buchner).[2] Auch Kohlensäure wirkt hemmend (Schierbeck),[3] ferner Sacharin (Stutzer),[4] ebenso Kaffee- und Theeaufguss (Schultz-Schultzenstein,[5] Fraser);[6] doch wies Wróblewski[7] nach, dass dies nur auf Rechnung der Gerbsäuren kommt, während Coffeïn und Theobromin im Gegentheil fördernd wirken; dagegen fand er Alkaloïde zum Theil stark hemmend, besonders Veratrin, Morphin, salzsaures Narceïn. Fördernd fand ferner Mann[8]) schwache Salzlösungen, Kohlensäure und besonders Gewürze, wie Pfeffer etc., stark hemmend Tabakssaft. Gegenwart kleiner Mengen von Blutserum soll hemmend wirken (Gley und Camus).[9]

Chittenden[10] hat für zahlreiche Substanzen nachgewiesen, dass sie in kleinen Dosen fördernd, in grösseren hemmend wirken, z. B. Arsenige und Arsensäure, Chloride und Bromide, Paraldehyd und Thallinsulfat. Antipyrin und Antifebrin wirken schwach hemmend, Chinin dagegen fördernd (Wolberg).[11] Rohrzucker in hohen Concentrationen (40%) wirkt schädlich (Buchner).[12] Auch Rhodankalium hemmt die Pepsinverdauung des Fibrins, doch hat Wróblewski[13] dafür nicht eine Schädigung des Fermentes, sondern die Schrumpfung des Fibrins unter dem Einfluss der Sulfocyanverbindungen verantwortlich gemacht.

Eine Untersuchung über den Einfluss einer grossen Anzahl von chemischen Agentien, sowie des Sonnenlichtes haben Fermi und Pernossi[14] angestellt. An dieser Stelle können nicht alle Einzelheiten der umfangreichen Arbeit angeführt werden.

---

1) Dubs, Virch. A. 134. 519.
2) Buchner, Arch. f. klin. Med. 29. 537.
3) Schierbeck, Scand. Arch. f. Phys. III. 357.
4) Stutzer, Landwirthsch. Versuchsst. 38. 63 (1891).
5) Schultz-Schultzenstein, Z. physiol. Ch. XVIII. 131 (1894).
6) Fraser, Journ. of anat. and phys. 31. 469.
7) Wróblewski, Z. f. physiol. Ch. 21. S. 1 (1895/96).
8) Mann, Diss. Erlangen 1897.
9) Gley und Camus, A. d. physiolog. 1897. S. 764.
10) Chittenden, Maly's Jb. XV. 277. XX. 248.
11) Wolberg, Pflüg. Arch. 22. 291 (1880).
12) Buchner, Chem. B. 30. 1110 (1897).
13) Wróblewski, Chem. B. 28. 1719 (1895).
14) Fermi und Pernossi, Ztsch. f. Hygiene. XVIII. S. 83ff.

Die Thatsache, dass Pepsin in neutraler Lösung auf Eiweissstoffe keine Wirkung entfaltet, sondern nur in saurer, und zwar, wie man zuerst annahm, salzsaurer resp. milchsaurer Lösung wirkt, führte C. Schmidt[1]) zu der Anschauung, dass sich das Pepsin zunächst mit der Salzsäure zu einer lockeren Verbindung, einer Pepsinsalzsäure binde, und dass dieser Act die Verdauung einleite. Als man aber später (s. o.) zeigen konnte, dass Pepsin in allen Säuren wirkt, da wäre es eine einfache Consequenz der Schmidt'schen Theorie gewesen, wenn nunmehr die anderen Säuren in einem Concentrationsgrad am wirksamsten gewesen wären, der gerade ebenfalls für eine Pepsinsäureverbindung geeignet gewesen wäre, d. h. in aquimolecularen Mengen. Das ist aber nach Davidson und Dieterich[2]) durchaus nicht der Fall. Es lässt sich vielmehr keine Gesetzmässigkeit in den wirksamsten Concentrationsgraden feststellen. Sie selbst (l. c. S. 701) stellen an der Stelle der Schmidt'schen Theorie eine andere auf:

Nur diejenigen Stoffe machen das Pepsin fähig, die Eiweissstoffe zu spalten, welche diese vorher zum Quellen bringen. Dies thun nun alle Säuren, aber für jede ist ein bestimmter Concentrationsgrad das Optimum, oberhalb und unterhalb desselben nimmt die Fähigkeit ab, bis sie schliesslich, und damit die Pepsinwirkung gleich Null wird. Ammoniak wirkt zwar ebenfalls sehr energisch auf Eiweisskörper quellend, zerstört indessen das Pepsin, so dass damit ein Vergleich nicht gezogen werden kann.

Für den physiologischen Ablauf der Pepsinverdauung sind auch die Amidosäuren des Magens wegen ihrer salzsäurebindenden Kraft nicht ohne Bedeutung. Hoffmann[3]) fand, dass Glycocoll die Pepsinverdauung hemmt, Rosenheim[4]) giebt dasselbe vom Leucin an. Salkowski[5]) hat dann die Frage ausführlich behandelt, und den Einfluss der Amidosäuren als nicht gerade wesentlich hingestellt.

Mit dieser Frage scheint es indessen zusammenzuhängen, dass die Pepsinwirkung schliesslich erlischt.

Zwar scheinen die aufgehäuften Spaltproducte, z. B. Albumosen etc., auch direct das Pepsin zu beeinträchtigen, vor Allem liegt es aber daran, dass die Salzsäure verschwindet. Wie Gürber[6]) nachwies, kann man die sistirte Verdauung wieder in Gang setzen, wenn man dem Gemisch ein paar Tropfen Salzsäure zusetzt. Beim Stillstand der

1) C. Schmidt, Liebig's Ann. **61**. S. 311.
2) Davidson u. Dieterich, Arch. f. Anat. u. Physiol. 1860. S. 690.
3) Hoffmann, Centralbl. f. klin. Med. 1891. 793.
4) Rosenheim, ibid. 1891. 729.
5) Salkowski, Virch. A. 127. S. 501. C. med. W. 1891. 945.
6) Gürber, Verhandl. Würzb. Phys. med. Soc. **1895**. S. 67.

Pepsinwirkung ist thatsächlich freie Salzsäure (durch Günzburg'sches Reagens oder durch ihre invertirende Kraft erkennbar) nicht mehr vorhanden. Gürber nimmt an, dass sie an die Spaltproducte gebunden wird, und zwar seiner Meinung nach auf 5 Atome Eiweissstickstoff 1 Mol. Salzsäure. Wenn auch diese Speculation etwas gewagt erscheint, auch die übrigen quantitativen Beziehungen, dass nämlich Deuteroalbumose mehr HCl als Protalbumose, Peptone aber wieder weniger binden sollen, ohne überzeugende Kraft sein müssen, so scheint doch die Thatsache der Bindung von HCl an albuminoïde Stoffe, für die Gürber die Amidosäuren (aber auch nicht nur als Analogie, was allein berechtigt wäre) heranzieht, sichergestellt. Indirect beeinflussen also die aufgehäuften Spaltproducte, wenn nicht das Ferment, doch jedenfalls die Fermentation.

Die Stoffe, welche durch Pepsin angegriffen werden, sind sämmtliche genuinen Eiweisskörper, gelöste und coagulirte gleichmässig,[1]) und die Nucleoalbumine, z. B. Caseïn, ferner Collagen, Glutin, Chondrogen, Chondrin, Elastin, Oxyhaemoglobin, nicht aber Mucin, Keratin, Chitin. Die nähere Besprechung, besonders der Spaltproducte, muss ich mir für später vorbehalten.

Die Geschwindigkeit, mit der die einzelnen Eiweissstoffe von Pepsin gelöst und verdaut werden, und die Beschaffenheit der entstehenden Producte ist bei den einzelnen Proteïden und verschiedenen Pepsinen verschieden.[2]) Caseïn soll am leichtesten gelöst werden. Der Werth dieser Arbeiten ist bei den stets discordanten Resultaten und der Verschiedenheit sowohl der Versuchsbedingungen, wie der Erkennungsmethoden, ein sehr geringer.

In die Blutbahn gebracht, nimmt es dem Blut die Fähigkeit zu gerinnen (Albertoni),[3]) wie dies auch andere Enzyme thun.

Eine für den Schutz des Organismus sehr wesentliche Function des Pepsins sieht Charrin[4]) in der Fähigkeit, Bacterientoxine unschädlich zu machen. Es ist indessen zweifelhaft, in welchem Maasse diese Wirkung nicht allein der Magensäure zugeschrieben werden muss; denn nach Fermi und Pernossi[5]) wird Tetanustoxin von Pepsin nicht verändert. Diphtherietoxin wird nach Gamaleïa[6]) zwar unter Abspaltung eines Nucleïns zersetzt, aber nicht entgiftet, denn gerade durch diese Spaltung soll das giftige Nucleïn in vivo wirken. Andere Untersucher schreiben ausserdem

1) Fick, Verh. d. Würzb. Phys. med. Soc. 1872. S. 113.
2) s. u. A. Klug jun., Pflüg. A. 65. 330. 1897.
3) Albertoni, C. f. d. med. Wiss. 1878. 3.
4) Charrin, Archiv de physiol. Ve Sér. X. S. 65.
5) Fermi und Pernossi, Z. f. Hyg. XVI. 385 (1894).
6) *Gamaleïa, C. R. soc. biol. 44. 153 (1892).

die Hauptthätigkeit bei der Vernichtung dieser in den Organismus per os eingedrungenen Gifte im Verdauungscanal der Galle zu (Fraser u. A.). Ein Peptotoxin, welches bei der Pepsinverdauung von Brieger[1]) aufgefunden worden ist, wird von Salkowski[2]) geleugnet. Die Giftwirkung soll die der Peptone sein.

Die Producte, welche durch die Pepsinverdauung entstehen: Der Vorgang der peptischen Spaltung ist unzweifelhaft ein Abbau höherer Molecularcomplexe zu niederen. Es entstehen aus den absolut indiffusiblen Eiweisssubstanzen schliesslich diffusible Stoffe, die Peptone. Dass diese Spaltung im Wesentlichen eine hydrolytische ist, lässt sich daraus erschliessen, dass der peptischen Verdauung analoge Producte beim Kochen von Eiweissstoffen mit verdünnten Säuren und Basen, sowie selbst durch überhitztes Wasser resp. Dampf entstehen.

Diesen Process im Einzelnen chemisch zu verfolgen ist vorläufig unmöglich, da uns nicht nur die Constitution der Eiweisskörper selbst, sondern auch die ihrer peptischen Abbauproducte völlig unbekannt ist. Wir müssen uns damit begnügen, mit Hilfe gewisser Fällungs- und Färbungsreactionen uns über die einzelnen Phasen des Processes im Ganzen zu orientiren, der, wie erwähnt, in einem allmählichen Abbau von den nichtdiffusiblen Eiweissstoffen zu den diffusiblen Peptonen führt. Dazwischen hat man einige noch wenig diffusible, aber von den Eiweissstoffen schon verschiedene Stufen, die man als Albumosen bezeichnet, aufgedeckt. Es würde weit über den Rahmen dieses Buches hinausgehen, wenn wir den ungemein zahlreichen und mühevollen Untersuchungen, die uns zu unserem heutigen Standpunkt geführt haben, im Einzelnen folgen wollten; nur das Wesentliche herausgreifend, können wir in grossen Zügen den Abbau der Eiweissstoffe nach modernen Anschauungen schildern.

Die ersten Entdeckungen auf diesem Gebiet sind von Meissner[3]) und seinen Schülern ausgegangen. Er unterschied mehrere „Peptone", die zum Theil unseren jetzigen Albumosen, zum Theil den sogenannten „echten" Peptonen, zum Theil dem Antialbuminat Kühne's gleichzustellen sind. Weitere fundamentale Arbeiten lieferte Schützenberger.[4])

Die modernen Anschauungen beruhen im Wesentlichen auf den classischen Arbeiten Kühne's und seiner Schüler. Kühne fand, dass bei der Pancreasverdauung (s. d.) stets rund die Hälfte des Eiweiss-

1) Brieger, Z. ph. Ch. VII. 274; Ueb. Ptomaïne. 1885. S. 14ff.
2) Salkowski, Virch. A. 124. 409.
3) Meissner, s. Zeitschr. f. rat. Medic. (3.) VII. 1, VIII. 280, XI, XIV. 303.
4) Schützenberger, Bull. de la soc. d. Paris. Bd. XXIII. 1. 161. 193. 216. 242. 385. 433. XXIV. 2. 145.

materials in Form eines Peptons der weitergehenden Spaltung entgeht, der die andere Hälfte unterliegt. Genau so verhielt es sich, wenn er die gesammte Peptonmenge, die er aus Eiweissstoffen bei der Magenverdauung erhielt, und die er als Amphopepton bezeichnete, der Trypsinspaltung preisgab. Während die eine Hälfte, das sog. Hemipepton, durch Trypsin in der characteristischen Weise zersetzt wurde, blieb die andere, das Antipepton, diesen Einflüssen gegenüber unverändert.

Kühne schloss daraus, dass sich im Eiweissmolecül zwei differente Gruppen befinden, die Hemi- und die Antigruppe, die nun gesondert abgebaut werden.

Aus der Antigruppe entsteht zunächst das Antialbuminat (Meissner's Parapepton) bei unzureichender Pepsinmenge.

Löslich in Säuren, fällbar durch Alkalien. Kann auch durch Kochen von Eiweiss mit verdünnten Säuren erhalten werden; ist dann gegen Pepsin unempfindlich, wird durch Trypsin in Antipepton übergeführt.

Bei reichlicher Pepsinmenge entsteht hingegen kein Antialbuminat, sondern zunächst Anti- und Hemialbumosen, dann Anti- und Hemipepton. Die Hemialbumose, die Kühne[1]) zuerst isolirte, erwies sich als ein Gemisch von verschiedenen, auch Antialbumosen.

Später gelang Kühne und Chittenden[2]) die Trennung der einzelnen Albumosen, die bei der Pepsinspaltung entstehen.

Der Verdauungssaft wird mit Natronlauge neutralisirt, der entstehende Niederschlag mit Kochsalz verrieben. Behandelt man ihn jetzt mit concentrirter Kochsalzlösung, so geht ein Theil in Lösung, den man als Deuteroalbumose bezeichnet. Diese wird aus der Kochsalzlösung durch Essigsäure gefällt.

Der Rückstand wird mit Wasser behandelt. Es geht bis auf einen geringen Rückstand, die Dysalbumose, alles in Lösung. Diese wird dialysirt. In Lösung bleibt die Protalbumose, während Heteroalbumose ausfällt. Ueber die systematische Stellung dieser verschiedenen Albumosen s. u.

Protalbumose ist löslich in Wasser, wird beim Kochen nicht coagulirt, ist unlöslich in concentrirter Kochsalzlösung. Salpetersäure giebt eine im Ueberschuss lösliche Fällung; Essigsäure und Ferrocyankalium einen Niederschlag, ebenso Kupfersulfat, Quecksilberchlorid, Bleiessig. Sie ist auch in Alkohol löslich und kann dadurch von der Heteroalbumose getrennt werden (Pick).[3]) Heteroalbumose ist unlöslich in Wasser, löslich in verdünnten Salzlösungen, Säuren und Alkalien. In Wasser suspendirt, coagulirt sie beim

1) Kühne, Z. f. Biol. XIX. S. 209.
2) Kühne und Chittenden, Z. f. Biol. XIX. S. 159. XX. S. 11.
3) Pick, Z. ph. Ch. 28. 219 (1899).

Sieden und wird unlöslich in Kochsalzlösungen. Schwermetallsalze geben Fällung. Sehr interessant ist der Befund von Spiro,[1]) dass Heteroalbumose bei weiterer Spaltung vorwiegend Leucin und auch Glycocoll, die Protalbumose dagegen viel Tyrosin und kein Glycocoll liefert, was auf einen tiefgreifenden Unterschied hindeutet. Deuteroalbumose ist löslich in gesättigter Kochsalzlösung, und in destillirtem Wasser. 2%ige Kupfersulfatlösung und Salpetersäure fällen nicht. Die Dysalbumose wird als eine Modification der Heteroalbumose angesehen, die in verdünnter Kochsalzlösung unlöslich ist.

Gemeinschaftliche Reactionen der Albumosen sind:

Ammoniumsulfat fällt sie aus.[2])

Salpetersäure giebt eine in der Wärme lösliche Fällung, ebenso Essigsäure und Ferrocyankalium, doch sind hier kleine Unterschiede zu constatiren.

Kupfersulfat und Natronlauge geben ebenfalls nicht ganz identische, auch von der Ausführung abhängige rothe bis rothviolette Färbungen (Biuretreaction).

Sie sind linksdrehend.

Analoge Albumosen sind aus anderen Eiweisskörpern dargestellt worden: Globulosen aus Globulin (Kühne und Chittenden,[3]) Chittenden und Hartwell),[4]) Vitellosen aus Vitellin (Neumeister,[5]) Chittenden und Mendel),[6]) Myosinosen (Kühne und Chittenden,[7]) Chittenden und Goodwin),[8]) die man ebenfalls mit Proto-, Deutero etc. näher bezeichnet. Ueber die Spaltproducte der albuminoiden Stoffe s. u.

Neumeister[9]) hat aus den Kühne'schen Befunden und Anschauungen, sowie auf Grund eigener Arbeiten eine Theorie der peptischen Eiweissspaltung aufgebaut. Er nimmt an, dass es zwei Hauptarten von Albumosen giebt, solche, die noch den Eiweisskörpern näher stehen, „primäre“ Albumosen und solche, die den Peptonen näher stehen, „secundäre“ Albumosen. Beide Gruppen leiten sich sowohl von der Hemi- als der Antigruppe des Eiweisskernes ab, jedoch so, dass die Protalbumose sich hauptsächlich von der Hemigruppe, die Heteroalbumose sich hauptsächlich von der Antigruppe ableitet, ohne dass jedoch die reciproken Gruppen gänzlich unbetheiligt sind. Beide liefern dann secundäre Albumosen, die man unter dem

1) Spiro, Z. f. phys. Ch. 28. 174 (1899).
2) Wenz, Z. f. Biol. XXII. S. 10 (1886).
3) Kühne u. Chittenden, Z. f. Biol. XXII. S. 409.
4) Chittenden u. Hartwell, Journ. of Physiol. XI. (1890) S. 435.
5) Neumeister, Z. f. Biol. XXIII. S. 381.
6) Chittenden u. Mendel, Journ. of Physiol. XVII. (1895) S. 48.
7) Kühne u. Chittenden, Z. f. Biol. XXV. S. 358.
8) Chittenden u. Goodwin, Journ. of Physiol. XII. S. 34.
9) Neumeister, s. u. A. Lehrb. d. phys. Ch. 1893. I.

Namen Deuteroalbumose (Amphoalbumose) zusammenfasst, und dann Amphopepton, das bei der Heteroalbumose natürlich mehr Antipepton, bei der Protalbumose mehr Hemipepton enthalten muss.

Die Kühne-Neumeister'schen Ansichten sind nicht ohne Widerspruch geblieben. Hamburger[1]) will den Unterschied zwischen den Albumosen nicht gelten lassen, sondern schreibt die wechselnden Löslichkeits- etc. Verhältnisse verschiedenen Mischungscoefficienten zu, die diese Erscheinungen bei einer Albumose auslösen könnten. Auch Morochowetz[2]) spricht sich gegen Kühne's Ansichten aus.

Die ganze Lehre von den Albumosen und ihren Beziehungen zum Eiweissmolecül hat überhaupt in jüngster Zeit mehrfache Modificationen und Anfechtungen erfahren.

E. P. Pick[3]) gelang es, durch partielle Sättigung mit Ammonsulfat aus dem „Witte"-Pepton nicht weniger als drei Deuteroalbumosen, A, B, C und zwei Peptone zu erhalten, und seine Beobachtungen wurden von Umber[4]) und Alexander[5]) als für reine Eiweisskörper giltig bestätigt. E. Zunz,[6]) der den Abbau verschiedener reiner Eiweissstoffe an der Hand der von Baumann und Bömer[7]) angegebenen Methode der Fällung mit Zinksulfat quantitativ untersuchte, ist sehr geneigt, auch die einheitliche Natur von Deuteroalbumose A und B in Zweifel zu ziehen, so dass dann fünf Deuteroalbumosen existirten. Zudem aber führt er den Nachweis, dass Deuteroalbumose A und vor allem B ebenso früh sich bilden, wie die sogen. „primären" Albumosen, also mit demselben Recht als solche bezeichnet werden müssten. Sogar noch unbekannte, keine Biuretreaction mehr gebende Körper (s. u.) bilden sich primär. Das ganze Kühne'sche Schema ist also sehr angreifbar. Dazu kommt, dass nach Alexander[5]) Caseïn keine Protalbumose liefert, also der Hemigruppe entbehren müsste und doch bei der Pancreasverdauung gespalten wird. Kühne selbst[8]) hat ferner gefunden, dass die Deuteroalbumose schwerer diffundirt, als Protalbumose, was auch für ihre den genuinen Eiweisskörpern noch näher stehende Natur spricht.

---

1) Hamburger, Maly's Jb. XVI. S. 20.
2) Morochowetz, St. Petersburg. med. Woch. 1886. No. 15.
3) Pick, Z. f. physiol. Ch. 24. 246.
4) Umber, ibid. 25. 258.
5) Alexander, ibid. 25. 411.
6) E. Zunz, J. ph. Ch. 27. 219. 28. 132.
7) Baumann u. Bömer, Z. f. Unters. v. Nahr.- u. Genussm. Bd. I. S. 106 (1898).
8) Kühne, Z. f. Biol. 29. S. 20 (1893).

Die Peptone. Sie sind nach den Annahmen Kühne's und seiner Schüler die letzten Producte der peptischen Verdauung.

Sie unterscheiden sich von den Albumosen durch Nichtfällbarkeit mit Ammoniumsulfat in angesäuerter Lösung (Wenz).[1] Sie diffundiren viel leichter durch thierische Membranen, und haben andere procentische Zusammensetzung, besonders niedrigeren Kohlenstoffgehalt. Entdeckt wurden sie von Meissner, wie oben erwähnt, der ihnen auch den Namen gab.

Darstellungsmethoden, die aber nicht zu albumosefreien Peptonen führen, sind von Henninger[2]) und Herth[3]) ausgegangen. Kühne[4]) hat mehrfach Methoden zur Erzielung reiner Peptone angegeben, die dann später durch Pick, Zunz[5]) u. A. genauer ausgearbeitet wurden.

Die Peptone werden weder durch Kochen, noch durch Säuren, noch durch Essigsäure und Ferrocyankalium gefällt.

Sie fallen mit mehreren Schwermetallsalzen, Gerbsäure, vor allem mit Phosphorwolframsäure aus, die besonders gern zu ihrer Abscheidung benutzt wird. Sie geben die Millon'sche und die characteristische rothe Biuretreaction mit Natronlauge und verdünntem Kupfersulfat. Sie sind linksdrehend.

Sie wirken in reinem Zustande nicht gerinnungshemmend (Pollitzer),[6]) wie man früher bei albumosehaltigen Präparaten gefunden hatte (Schmidt-Mülheim,[7]) Fano)[8]) und unterscheiden sich gerade dadurch auch von den Albumosen.

Kühne und seine Schüler haben ihrer Grundanschauung folgend (s. o.) ein Hemipepton und ein Antipepton angenommen. Das letztere soll ein einheitlicher Körper sein und durch Trypsin nicht weiter verändert werden.

Es giebt nicht wie Hemipepton die Rothfärbung mit Millon's Reagens (Kühne und Chittenden).

Durch neuere Untersuchungen von Kutscher[9]) ist es jedoch fast zur Evidenz erhoben, dass das Kühne'sche Antipepton als solches nicht, zum mindesten nicht in der angenommenen Menge (der Hälfte

---

1) Wenz, Zeitsch. f. Biol. XXII. S. 10.
2) Henninger, Comptes rendus. **86**. 1413, 1464.
3) Herth, Z. f. phys. Ch. I. 277.
4) Kühne u. Chittenden, Z. f. Biol. XXII. 425. Kühne, ib. **29**. S. 1.
5) l. c.
6) Pollitzer, Journ. of physiol. VII. 283. s. a. Verh. d. nat. hist. V. Heidelb. N. F. III. S. 293.
7) Schmidt-Mülheim, Dubois A. f. Phys. 1880. S. 50.
8) Fano, ibid. 1881. S. 277.
9) Kutscher u. A., „Die Endproducte der Trypsinverdauung.“ Habilit.-Schrift. Strassburg 1899.

des Gesammtproductes) existirt, sondern ein Gemenge der verschiedenen, bei der Trypsinspaltung entstehenden Stoffe ist. Durch diese Befunde ist die ganze Anschauung von der Hemi- und Antigruppe im Eiweissmolecül in ihren Grundlagen erschüttert. Wir werden bei der Trypsinwirkung darauf zurückkommen.

Sonstige Producte der Pepsinspaltung: Schon Hoppe-Seyler[1]) hatte behauptet, dass bei der Pepsinwirkung noch andere, wahrscheinlich einfachere Stoffe, wie Amidosäuren entstehen. Chittenden und Hartwell[2]) erzielten keine vollständige Umwandlung der Eiweisskörper in Peptone. Auch die Befunde von Lawrow[3]) sprechen für die Annahme anderweitiger Abbauproducte, besonders aber die Arbeiten von E. Zunz.[4]) Er fand bei energischer Pepsinwirkung relativ wenig Peptone, aber beträchtliche Mengen von stickstoffhaltigen Stoffen, die nicht durch Phosphorwolframsäure, wohl aber durch Gerbsäure fällbar waren und keine Biuretreaction gaben. Sie traten schon früh auf und gehören also zu den „primären" Abbauproducten. Ihre Natur ist noch unbekannt.

Wirkung von Pepsin auf albuminoide Substanzen: Collagen und Glutin werden durch Pepsin in Glutose und Glutinpepton gespalten, wobei Collagen erst in Glutin übergeht (Etzinger,[5]) Uffelmann,[6]) Tatarinoff,[7]) Klug,[8]) v. Gerlach).[9])

Chondrogen und Chondrin werden langsamer, aber in ähnlicher Weise zersetzt. Es entsteht dabei ausser Pepton ein reducirender Körper.[10])

Mucin wird nach Kühne und Schiff von Pepsin nicht angegriffen.[11])

Aus Elastin entstehen albumoseähnliche Körper (Etzinger,[5]) Gamgee, Horbaczewski,[12]) Morochowetz,[13]) Chittenden und Hart).[14]) Keratin, Chitin, Conchiolin, Spongin werden nicht angegriffen.[10])

1) Hoppe-Seyler, Physiolog. Chemie 1881. II. S. 228.
2) Chittenden u. Hartwell, Journ. of physiol. XII. S. 12 (1891).
3) Lawrow, Zeitsch. f. physiol. Ch. 26. 513 (1898).
4) E. Zunz, Z. f. phys. Ch. 28. 172 (1899).
5) Etzinger, Zeitsch. f. Biol. X. S. 84. (dort ältere Litteratur).
6) Uffelmann, A. f. klin. Med. XX. 535.
7) Tatarinoff, Centralbl. f. med. Wiss. 1877. 275.
8) Klug, Centralbl. f. Physiol. IV. S. 189.
9) v. Gerlach, Die Peptone. 1891.
10) Hoppe-Seyler, Physiol. Ch. S. 234.
11) Gamgee, Phys. Ch. d. Verdauung. S. 159. 160.
12) Horbaczewski, Z. ph. Ch. VI. 330.
13) Morochowetz, Maly's Jb. 1886. S. 271.
14) Chittenden u. Hart, Z. f. Biol. 25. S. 368 (1889).

Oxyhaemoglobin wird in Albumosen und Pepton unter Abspaltung von Hämatin zerlegt.[1])

Aus Caseïn hat zuerst Thierfelder[2]) mehrere „Propeptone" und ein Pepton erhalten.

Caseïnalbumosen, Caseosen sind dann von Chittenden und Painter[3]) beschrieben worden.

Sebelien[4]) hat dann weiterhin Albumosen und (optisch inactive [?]) Peptone aus Caseïn gewonnen, desgl. Salkowski.[5]) Dann hat Alexander[6]) die Frage mit Hilfe der Pick'schen Methode (s. o.) nochmals aufgerollt und den Pick'schen Albumosen entsprechende Körper dargestellt. Heteroalbumose fehlte fast ganz.

Ausser den typischen Eiweissspaltungsproducten entstehen aus dem Caseïn natürlich auch phosphorhaltige Producte, die zum Theil mit in Lösung gehen (Lubavin,[7]) Salkowski und Hahn,[8]) v. Moraczewski,[9]) der wechselnde Mengen Pseudonucleïn fand, u. A.). Nucleïnähnliche Körper haben Cl. Willdenow[10]) und Wróblewski[11]) bei der peptischen Caseïnverdauung erhalten, letzterer das Nucleïn nur aus Kuhmilchcaseïn, nicht aus Frauencaseïn. Nucleïn wird von Pepsin nicht angegriffen (Miescher).[12])

Die peptische Verdauung des Glutencaseïns des Weizens ist von Chittenden und Smith[13]) untersucht worden.

Chlorophyll wird von Pepsinsalzsäure zum Theil verdaut, indem das Metaxin angegriffen, das Chloroplastin dagegen nicht verändert wird (Schwarz).[14]) Eine verdauende Einwirkung von Pepsin auf andere Fermente ist mehrfach constatirt worden.

---

1) Hoppe-Seyler, Physiol. Ch. S. 233.

2) Thierfelder, Z. ph. Ch. X. S. 577.

3) Chittenden u. Painter, Studies from the Laboratory of Physiol. Chem. of Yale College. II. 1885—86. S. 156. III. 66. (Maly's Jb. **17**. S. 16 **20**. S. 17).

4) Sebelien, Chem. Centralbl. 1890. I. 170.

5) Salkowski, Centralbl. f. med. Wiss. 1893. 385.

6) Alexander, Z. f. physiol. Ch. 25. 411.

7) *Lubavin, Hoppe-Seyler's Unters. z. med. Chemie. I. S. 463.

8) Salkowski u. Hahn, Pflüg. A. 59. 225.

9) v. Moraczewski, Z. f. physiol. Ch. 20. S. 28 (dort umfangreiche Litteraturangaben).

10) Clara Wildenow, Z. Kenntn. d. pept. Verd. d. Caseïns. Diss. Bern 1893.

11) Wróblewski, Beiträge zur Kenntniss des Frauencaseïns und seiner Unterschiede vom Kuhcaseïn. Diss. Bern 1894.

12) Miescher cit. n. Bokay, Z. phys. Ch. I. 157.

13) Chittenden u. Smith, Journ. of phys. XI. 410.

14) Schwarz b. Cohn, Beitr. z. Biol. d. Pflanzen. V. S. 73.

Zehntes Capitel.

Das Trypsin.

Das Trypsin, wie es von Kühne genannt worden ist, ist das proteolytische Ferment der Bauchspeicheldrüse.

Es ist wie das Pepsin ein ungeformtes Ferment, so dass seine Wirkung ebenfalls nicht nur an dem Organ selbst, sondern auch an dessen Saft und daraus hergestellten Präparaten studirt werden kann.

Die Wirkung des Pancreassaftes auf Eiweisskörper ist, wie Corvisart[1]) angiebt, bereits im Jahre 1836 von Purkinje und Pappenheim beobachtet werden. Erkannt, aber nicht nach Gebühr gewürdigt wurde sie auch von Claude Bernard.[2]) Genauer untersucht wurde diese wichtige Erscheinung zuerst von Corvisart und dann von Meissner.[3]) Dann folgten die Arbeiten Kühne's und seiner Schüler, besonders Danilewsky's.[4]) Durch Kühne[5]) wurde festgestellt, dass durch Pancreassaft und das Gewebe der Drüse Eiweisskörper einem Zerfall unterliegen, der sich dadurch von dem peptischen unterscheidet, dass ausser Peptonen auch Leucin und Tyrosin entstehen. Den Vorgang der Secretion untersuchte zuerst Heidenhain.[6]) Trotzdem man die intensive Beeinflussung der Eiweisskörper durch das Ferment der Bauchspeicheldrüse ohne Weiteres feststellen kann, ist doch das Pancreas kein absolut zum Leben nothwendiges Organ. Man hat sogar behauptet, dass eine Verödung des Pancreas (z. B. nach Unterbindung des Ausführungsganges) überhaupt keine Stoffwechselanomalien herbeiführte. Rosenberg[7]) hat indessen nachgewiesen, dass das Fehlen

1) Corvisart, Sur une fonction peu connue du Pancréas. Paris 1857—58; s. f. Z. f. ration. Med. (3.) VII. 119.

2) Cl. Bernard, Leç. d. physiol. expér. II. (1856).

3) Meissner, Zeitschr. f. rat. Med. (3.) VII. (1859).

4) Danilewsky, Virch. A. 25 (1862). S. 267.

5) Kühne, Virch. A. 39 (1867). S. 130 (dort die gesammte ältere Litteratur).

6) Heidenhain, Pflüg. A. X. 557.

7) Rosenberg, Pflüg. A. 70. 371 (dort die Litteratur über diese Frage).

des pancreatischen Saftes im Darm eine Herabminderung der Eiweissumsetzung mit sich bringt.

Darstellung des Trypsins: Wenn man Pancreassaft mit Alkohol fällt, entsteht ein trypsinhaltiger Niederschlag, den man Pancreatin nannte. Er enthält indessen noch eine Beimengung von Eiweissstoffen, die Kühne[1]) unter dem Namen Leukoid zusammenfasst, und andere Verunreinigungen, von denen er es durch Auflösen in Wasser von 0^0, successive fractionirte Fällung mit Essigsäure und Soda, schliesslich durch Dialyse grossentheils befreien konnte. Eine bequemere Methode hat Kühne dann später angegeben. Hammarstén[2]) extrahirt das Pancreas mit 0,03% Ammoniak und fällt mit Essigsäure. Der Niederschlag wird dann in Sodalösung gelöst. Gulewitsch[3]) extrahirt mit chloroform- und thymolhaltiger Sodalösung, Loew[4]) mit 40% Alkohol und fällt mit Alkohol-Aether.

Wirksame Fermentlösungen, in denen aber auch die anderen Fermente des Pancreas sich finden, haben durch Glycerinextracte hergestellt Heidenhain,[5]) v. Wittich,[6]) durch Chloroformwasser, Borsäure- und Kochsalzlösung Roberts,[7]) Harris und Gow,[8]) Salicylsäure Kühne.[9]) Paschutin[10]) hat Versuche über die Extraction der verschiedenen Pancreasfermente durch Salzlösungen gemacht. Jodkalium, arsenigsaures Natron, schwefligsaures Natron, Oxalsäure und Weinsäure nehmen vorwiegend das Trypsin auf, sind also zur Herstellung wirksamer Verdauungslösungen geeignet.

Eigenschaften des Trypsins: Es ist wie alle Fermente in reinem Zustande nicht dargestellt. Wie die Diastase scheint das Trypsin eine den Eiweisskörpern nahestehende, sehr complicirte Zusammensetzung zu haben; nach Kühne soll es sogar noch complexer gebaut sein, da es erst bei der Spaltung Eiweissstoffe abscheidet, wenn man es mit verdünnten Säuren erhitzt. Es ist leicht löslich in Wasser

---

1) Kühne, Verh. d. Heidelb. Nat. hist. Med. Vereins. Neue F. I. (1876). S. 194, und III. 463.
2) Hammarstén, Lehrb. phys. Ch. (1895). S. 265.
3) Gulewitsch, Z. phys. Ch. 27. 544 (1899).
4) Loew, Pflüg. A. 27. 207 (1882).
5) Heidenhain, Pflüg. A. X. 557.
6) v. Wittich, Pflüg. A. II. 196.
7) Roberts, On the digestive Ferment. Lumleian lecture. 1880. London. S. 26. cit. n. Gamgee, l. c.
8) Harris und Gow, Journ. of Physiol. XIII. 469.
9) Kühne, Unters. physiol. Inst. Heidelb. I. (1878). S. 222.
10) Paschutin, Müller-Reichert's A. f. Phys. 1873. S. 382.

und wasserhaltigem Glycerin. In reinem Glycerin und starkem Alkohol ist es unlöslich, in 40procentigem Alkohol dagegen löslich (Dastre).[1])

Es wirkt am besten in schwach alkalischer Lösung (1% Soda); jedoch auch in neutraler und schwach saurer Lösung, nach Schierbeck[2]) sogar in ganz schwach sauren am besten. Damit würde sich seine Wirksamkeit denen der anderen Enzyme, die ebenfalls in schwach saurer Lösung ihr Optimum haben, näher anschliessen.

Nach Kühne[3]) bleibt es bis zu einem Salzsäuregehalt von 0,05 Proc. wirksam, was von Langley[4]) bestätigt wird, dagegen soll es nach Ewald[5]) sogar noch bei 0,3 Proc. wirksam sein. Stärkere Säuren wirken natürlich energisch schädigend; indessen wird diese Wirkung paralysirt, ja es kann sogar eine gewisse Förderung eintreten, wenn die Säuren an Eiweissstoffe gebunden sind (Chittenden und Cummins).[6])

Galle befördert die Trypsinwirkung, besonders bei Gegenwart von Milchsäure (Lindberger),[7]) doch auch von Salzsäure (Raschford und Southgate).[8])

Durch stärkere Alkalien wird es wie alle Fermente schnell zerstört. Dadurch, dass sie die Alkalescenz schwächt, wirkt Kohlensäure in alkalischer Reaction fördernd, in saurer aber hemmend (Schierbeck).[2])

Die Wirkung von Neutralsalzen wurde vielfach untersucht, eingehend zuerst von Podolinski.[9]) Er fand, dass alle Salze die Trypsinwirkung befördern, dass aber die Intensität dieser Beeinflussung sehr verschieden ist. Natronsalze zeigten sich am stärksten.

Dagegen erwies sich neutrales Ammoniumphosphat als eher hindernd, ebenso u. A. Quecksilber- und Eisensalze (Chittenden und Cummins).[6])

Chittenden und Stewart[10]) untersuchten den Einfluss von Arzneistoffen und fanden, dass diese häufig in kleinen Dosen fördernd, in

1) Dastre, Arch. d. physiol. 1896. 120.
2) Schierbeck, Scand. Arch. f. Physiol. III. 344.
3) Kühne, Verh. Nat. Med. V. Heidelb. N. F. I.
4) Langley, Journ. of phys. III. 263.
5) Ewald, Z. klin. Med. I. 615.
6) Chittenden und Cummins, Maly's Jb. 1885.
7) Lindberger, Maly's Jb. XIII. 280 (1883).
8) Raschford und Southgate, Medic. Record. 21. XII. 95. Maly's Jb. 26. S. 392 (1896).
9) Podolinski, Beitr. z. Kenntn. d. pancr. Eiweisverdg. Diss. Breslau 1876.
10) Chittenden und Stewart, Maly's Jb. 20. 248 (1890).

grösseren hemmend wirken, indess auf Trypsin im Allgemeinen schwächer als auf Pepsin. Paraldehyd schädigte besonders intensiv.

Eine umfassende Arbeit über den Einfluss aller möglichen Stoffe auf Trypsin wurde von Fermi und Pernossi[1]) mitgetheilt, auf die hier nur verwiesen werden kann.

Durch Pepsin wird es in salzsaurer Lösung schnell unwirksam (Mays,[2]) Langley).[3]) Nach Kühne[4]) ist dies physiologisch wichtig, insofern als es eine Erklärung für die Bedeutung der Galle im Verdauungsprocess darbietet. Die Galle fällt normaler Weise das Pepsin aus; wenn diese Function, also z. B. bei einer Fistel, fehlt, so dringt das Pepsin im Darm vor und zerstört in mehr oder minder hohem Grade das Trypsin; dadurch wird die Eiweissverdauung gehemmt.

Seine Wirkung steigt bis ca. 60°, fällt dann rasch und hört bei 75—80° auf (Roberts).[5]) Dagegen giebt Biernacki[6]) an, dass es in schwach alkalischer Lösung schon bei 50°, in neutraler sogar bei 45° unwirksam werde. Aehnlich bekundet Heidenhain,[7]) dass es bei längerem Erwärmen auf 35° an Wirksamkeit verliert, eine Angabe, die von Kühne,[8]) Salkowski,[9]) Ewald[10]) bestritten wird.

Trockenes Erhitzen verträgt es (Hüfner),[11]) sogar bis auf 160° (Salkowski).[12]) In Aether im zugeschmolzenen Glasrohr wird es schon bei 80° zerstört, in Amylalkohol bleibt es bei 100° wirksam (Fermi und Pernossi).[1])

Trypsin beim Fötus fanden u. A. Albertoni[13]) und Fermi.[14])

Ausserhalb des Pancreas wurde es von Sahli,[15]) Gehrig,[16]) Tasulli,[17]) Dastre und Floresco,[18]) Bendersky[19]) im Harn ge-

1) Fermi und Pernossi, Z. f. Hyg. XVIII. 83.
2) Mays, Unters. physiol. Inst. Heidelb. III. 378.
3) Langley, Journ. of physiol. III. 263.
4) Kühne, Verh. naturh. med. V. Heidelb. 1877. S. 190.
5) Roberts cit. n. Gamgee, l. c. S. 235.
6) Biernacki, Z. f. Biol. 28. 62.
7) Heidenhain, Pflüg. A. X. 557.
8) Kühne, Verh. des Nat. Med. V. Heidelberg. N. F. I. S. 196 (1876).
9) Salkowski, Virch. A. 70. 158.
10) Ewald, Lehre von d. Verdauung. 1878. S. 8.
11) Hüfner, J. pr. Ch. N. F. Bd. V. 372.
12) Salkowski, Med. Centralbl. 1876. 29. Virchow's A. 70. 158.
13) Albertoni, Maly's Jb. VIII. 254 (1878).
14) Fermi, Maly's Jb. 1892. 592.
15) Sahli, Pflüg. A. 36. 224. 16) Gehrig, Pflüg. A. 38. 35.
17) Tasulli, Maly's Jb. 1894. 289.
18) Dastre und Floresco, C. R. soc. biol. 1897. 849.
19) Bendersky, Virch. A. 121. 554.

funden, wo es andererseits Leo[1]) und Stadelmann[2]) nicht finden konnten. Kühne[3]) fand es nirgend, ausser im Pancreas und Darminhalt. Das von Schmiedeberg aus den Nieren dargestellte Histozym ist nach Nencki[4]) wahrscheinlich ein pancreatisches Ferment. Hoffmann[5]) fand Trypsin nur dann im Harn, wenn der Pancreassaft vom Darm abgeschlossen war, sonst niemals, fand es dagegen in der Milz u. a. Organen. Fermi und Pernossi[6]) konnten es im Harn finden, wenn sie es subcutan injicirten. Im Sputum von Lungenkranken fanden es Filehne[7]) und Escherich,[8]) besonders bei Bronchiektase und Phthise.

Bei anderen Wirbelthieren, soweit sie eine Bauchspeicheldrüse haben, fand man es ebenfalls. Bei vielen Fischen fand es Krukenberg[9]) im Magen und Darm; Homburger[10]) proteolytische Fermente von ähnlicher Natur bei Cyprinoiden. Hoppe-Seyler[11]) fand ein Trypsin beim Flusskrebs, Biedermann[12]) beim Mehlwurm. Eine sehr interessante Beobachtung, die auf ein Vorhandensein tryptischer Fermente im Ei hinweist, hat Gayon[13]) gemacht. Er fand in nicht fauligen Eiern Tyrosin. Der Eiinhalt war flüssig; Microben nicht vorhanden. Später fand Mroczkowski[14]) ein tryptisches Ferment in getrocknetem Hühnereiweiss.

Den Nachweis der Trypsinwirkung und eine annähernde Schätzung kann man vornehmen an Fibrin, das nach dem Grützner'schen Princip (s. b. Pepsin) mit Magdalaroth gefärbt ist. Man bringt es auf ein Filter und beobachtet (und zählt eventuell) die gefärbten Tropfen, die bei der Trypsinwirkung aus dem Trichter herauskommen (Gehrig l. c.). Roberts[15]) benutzt das Eintreten resp. Verschwinden der Metacaseïnreaction (s. u.) zur Bestimmung der proteolytischen Kraft.

Die verschiedenen Thiere haben verschieden energische Pancreas-

---

1) Leo, Pflüg. A. 37. S. 226, 39. S. 246.
2) Stadelmann, Z. f. Biol. 24. 226.
3) Kühne, Verh. naturhist. med. V. Heidelberg 1880. S. 1.
4) Nencki, A. exp. Path. 20. 376.
5) Hoffmann, Pflüg. A. 41. 148. (1887).
6) Fermi und Pernossi, Z. f. Hyg. XVIII. S. 125.
7) Filehne, Sitzb. d. Erlanger Phys. Med. Soc. 1877. S. 169.
8) Escherich, Arch. f. klin. Med. 37. 196 (1885).
9) Krukenberg, Unters. physiol. Inst. Heidelberg. 1882. II. S. 396.
10) Homburger, C. med. Wiss. 1877. 561.
11) Hoppe-Seyler, Pflüg. A. XIV. 394.
12) Biedermann, Pflüg. A. 72. 160.
13) Gayon, Thèse. Paris 1875. cit. n. Schützenberger, l. c. S. 199.
14) Mroczkowski, Biolog. Centrbl. IX. 154 (1889/90).
15) Roberts, Proceed. Royal Society. 32. 145.

verdauung. Für das proteolytische Ferment fand Floresco[1]) die Reihenfolge: Schwein, Hund, Rind, Hammel; auf Leim wirkte dagegen das des Hundes am stärksten, dann Schwein, Hammel, Rind.

In die Blutbahn gebracht, verhindert Trypsin die Gerinnung des Blutes und zerstört Leucocyten (Albertoni).[2])

Eine besondere Wirkung soll der Pancreassaft auf Milch resp. Caseïnlösung haben, die er, aber in vom Labferment verschiedener Weise, zum Gerinnen bringt. (Metacaseïnreaction.) (Kühne,[3]) Halliburton und Brodie.)[4]) Es bewirkt u. A., dass das so veränderte Caseïn beim Kochen gerinnt, mit Kochsalz einen Niederschlag giebt etc. (Edkins).[5]) Dieses Metacaseïn stellt nach Roberts[6]) das erste tryptische Verdauungsproduct des Caseïns dar.

Das Zymogen des Trypsins: Dass das Pancreas kein fertiges Trypsin enthält, sondern nur eine Vorstufe, die bei geeigneter Behandlung das wirksame Enzym abspaltet, fand Heidenhain.[7])

Podolinsky[8]) hat dann dieses Zymogen genauer untersucht. Es wird durch neutrale Glycerinlösung aus der Drüse entfernt und ist darin beständig. Man kann es auch daraus durch Alkohol fällen und in Sodalösung auflösen, ohne dass es in Ferment übergeht, was indess Kühne leugnet.

Es geht in actives Ferment über durch Liegenlassen an der Luft; durch Verdünnung der Glycerinlösung mit Wasser; durch Behandlung mit Säuren; Podolinsky nimmt dabei eine Wirkung des Sauerstoffs an, wie auch Wasserstoffsuperoxyd und Platinmohr fermentbildend wirken. Er versuchte, durch Reduction das Zymogen aus dem Ferment zurück zu gewinnen; während Phosphor und Zinkstaub ohne Wirkung waren, schwächte Hefe die Enzymwirkung, die durch Sauerstoffzufuhr wieder verstärkt wurde. Durch alle Salze wurde die Spaltung beeinträchtigt.

Nach Herzen[9]) scheint die Function der Milz in gewissem Zusammenhange mit der Spaltung des Zymogens zu stehen, indem das Pancreas eines ausgehungerten Hundes erst durch die Behandlung mit Milzsubstanz eines gefütterten Hundes wirksam wurde.

---

1) Floresco, Compt. rend. d. l. soc. d. biol. (1896). 48. 77. 890.
2) Albertoni, Maly's Jb. VIII. 127.
3) Kühne, Verh. nat. hist. med. V. Heid. N. F. III.
4) Halliburton und Brodie, Journ. of Phys. XX. 97.
5) Edkins, Journ. of physiol. XII. 193.
6) Roberts, Proceed. Royal Society. 32. 145.
7) Heidenhain, Pflüg. A. X. 581.
8) Podolinsky, Beiträge zur Kenntniss d. pancreat. Eiweissferm. Diss. Breslau 1876.
9) Herzen, Centralbl. f. med. Wiss. 1877. S. 435.

Pancreas wirkt mit Milzsubstanz zusammen energischer als für sich allein; diese Wirkung ist nicht etwa einer Activirung des Trypsinogens durch Hämoglobin-Sauerstoff zuzuschreiben, da arterielles Blut unwirksam, kohlenoxydgesättigtes Milzvenenblut dagegen wirksam ist (Herzen).[1])

Nach Albertoni[2]) soll dieses Zymogen schon in den letzten Fötalmonaten vorhanden sein.

Producte der Trypsinverdauung: Trypsin wirkt sehr energisch auf alle Eiweisskörper, auch auf ihre einfachsten Repräsentanten, die Protamine (Kossel und Matthews).[3]) Das einzige Ergebniss bei Versuchen, einfachere Substanzen durch Trypsin zu spalten, findet sich bei Blank,[4]) der Hippursäure gespalten haben will; dagegen gelang es Gulewitsch[5]) nicht bei einem einzigen einfacheren Stoffe einwandsfrei.

Aus ungekochtem Fibrin soll nach Herrmann[6]) ein bei 55 bis 60° gerinnendes Globulin bei der Trypsinverdauung entstehen, während das mit ihm gefundene Paraglobulin (Otto,[7]) Hasebroek)[8]) eine Verunreinigung des Fibrins darstellt. Dann entstehen als Zwischenproducte Albumosen und Peptone; bei energischer Einwirkung indess hauptsächlich zwei Gruppen von Körpern, nämlich Amidosäuren und die erst in jüngerer Zeit bekannt gewordenen Hexonbasen: Lysin, Arginin und Histidin. Ferner bildet sich Ammoniak (Hirschler,[9]) Stadelmann,[10]) Kutscher)[11]) und Tryptophan.

Bevor wir auf die nähere Characteristik dieser Spaltungsproducte eingehen, müssen wir die in neuester Zeit aufgetretene Streitfrage über die Existenz des sog. Kühne'schen Antipeptons in den Kreis unserer Betrachtung ziehen.

Wie wir in dem Capitel „Pepsin" auseinandergesetzt haben, glaubte Kühne die Existenz zweier Arten von Peptonen annehmen zu müssen; er führte aus, dass das Hemipepton durch Trypsin weiter zersetzt würde, während das Antipepton gegen dieses Enzym beständig sei. Ueber seine näheren Eigenschaften sagt er nichts Sicheres

1) Herzen, Annali di chim. e farm. 1888. S. 302.
2) Albertoni, Maly's Jb. VIII. 254.
3) Kossel u. Matthews, Z. phys. Ch. 25. 190.
4) Blank b. Nencki, Arch. f. exp. Path. 20. S. 377.
5) Gulewitsch, Z. ph. Ch. 27. 540.
6) Herrmann, Z. ph. Ch. XI. 508.
7) Otto, Z. phys. Ch. VIII. 129.
8) Hasebroek, ibid. XI. 348.
9) Hirschler, Z. ph. Ch. X. S. 302.
10) Stadelmann, Z. f. Biol. 24. S. 226.
11) Kutscher, Endprod. d. Trypsinverd. Habilit.-Schr. Strassb. 1899. S. 10.

aus, hielt es auch wohl kaum für ein chemisches Individuum. Dahingegen sprachen sich Siegfried[1]) und Balke[2]) für die chemische Individualität des „Antipeptons“ aus, das mit der Siegfried'schen Fleischsäure identisch sein sollte.

Während Kühne[3]) selbst über die Formel und Reactionen des Antipeptons schwankende Angaben macht, geben ihm Siegfried und Balke die Formel $C_{10} H_{15} N_3 O_5$.

Es gelang ihnen nicht, einen geringen Gehalt an Schwefel zu beseitigen, den sie für eine Verunreinigung ansahen. Fränkel[4]) giebt eine Methode an, das Antipepton schwefelfrei herzustellen.

Kutscher[5]) ist nun der Nachweis gelungen, dass sich aus dem sogen. Antipepton durch Fällung mit Phosphorwolframsäure bedeutende Mengen von Hexonbasen, aus dem nicht fällbaren Rest dagegen Leucin, Tyrosin und andere Amidosäuren abspalten lassen. Diesen sehr wichtigen Befund hat er auch gegen Angriffe von Siegfried erfolgreich vertheidigt.

Ferner ist es ihm gelungen, die dem Antipepton als besonders characteristisch zugeschriebene Biuretreaction bei der Trypsinverdauung von Pancreassubstanz bis auf einen ganz geringen Rest zum Verschwinden zu bringen. Aus allem diesem lässt sich mit Wahrscheinlichkeit schliessen, dass das Kühne'sche Antipepton aus der Schilderung der Trypsinverdauung zu verschwinden hat, und dass die Trypsinspaltung der Eiweisskörper sich ganz analog der durch starke Schwefelsäure verhält.

Im einzelnen sind die Spaltproducte der Eiweisskörper folgende:

Amidosäuren. Leucin[6]) wurde im Pancreas zuerst von Virchow[7]) gefunden. Später fand man es in vielen Organen, auch von Wirbellosen, und in Pflanzen.

Es entsteht regelmässig bei allen energischen Spaltungen der Eiweisskörper der Hornsubstanz, des Elastins etc.

---

1) Siegfried, Dubois Arch. f. Phys. 1894. S. 401. Z. f. phys. Ch. 21. S. 360.

2) Balke, Z. phys. Ch. 22. S. 248.

3) Kühne, Z. f. Biol. 22. 450. 28. 571. 29. S. 1. 308.

4) Fränkel, Wien. med. Blätter 1896. 708.

5) Kutscher, Z. phys. Ch. 25. 195. 26. 110. Ferner: Die Endprod. d. Trypsinverdauung Habil.-Schr. Strassburg 1899.

6) Eine genaue Beschreibung und Zusammenstellung der Litteratur über Leucin s. bei Gamgee, Phys. Chem. d. Verdg. S. 244.

7) Virchow, sein Archiv VII. 580.

Leucin ist eine Amidocapronsäure, und zwar wahrscheinlich die *α* von der Formel [1])

$$\begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix} > CH \cdot CH_2 \cdot CH < \begin{matrix} NH_2 \\ COOH. \end{matrix}$$

Das pflanzliche und thierische Leucin sind wahrscheinlich stereomer, aber von derselben Constitution.

Es ist synthetisch aus Isovaleraldehydammoniak und Blausäure erhalten worden (Hüfner l. c.). Das synthetische Product ist inactiv, das natürliche rechtsdrehend. Penicillium glaucum verzehrt aus dem racemischen Gemisch die rechtsdrehende Form und lässt nur eine linksdrehende zurück.

Isomere Leucine sind von R. Cohn,[2]) Hüfner und Nencki[3]) beschrieben worden. Das gewöhnliche Leucin krystallisirt in characteristischen Kugeln und Knollen, schmilzt bei ca. 170° und sublimirt unzersetzt in feinen, wolligen Massen. Es ist ziemlich leicht löslich in Wasser, schwer in Alkohol. Characteristisch ist sein Phenylhydantoin und der Aethylester seines Chlorhydrates (Röhmann).[4])

Tyrosin [5]): Tyrosin kommt im Gegensatz zu Leucin niemals [6]) im lebenden Gewebe höherer Thiere vor, ausser bei gewissen Erkrankungen, dagegen findet es sich bei manchen wirbellosen Thieren. Es entsteht bei der Spaltung sämmtlicher Eiweisskörper mit Ausnahme des Leims.

Es ist eine Paraoxyphenylamidopropionsäure (synonym ist Oxyphenylalanin, *α*-Amidoparahydrocumarsäure)

$$C_6H_4 < \begin{matrix} OH \\ CH_2 \end{matrix} \cdot CH < \begin{matrix} NH_2 \\ COOH. \end{matrix}$$

Es ist von Erlenmeyer und Lipp[7]) synthetisch dargestellt worden, jedoch inactiv, und erst von E. Fischer[8]) in die optischen Componenten zerlegt worden. Es ist sehr schwer löslich in Wasser, unlöslich in Alkohol. Es krystallisirt in büschelförmig gruppirten Nadeln. Beim Kochen mit Millon's Reagens (Mercurinitratlösung) giebt es die für die Eiweisskörper characteristische Rothfärbung.

---

1) Hüfner, J. pr. Ch. (N. F.) I. S. 6. Schulze u. Likiernik, Chem. Ber. 24. 669. B. Gmelin, Beitr. z. Kenntn. d. Leucins. Diss. Tübingen 1892 (sehr ausführliches Litteraturverzeichniss).

2) Cohn, Z. ph. Ch. 20. 203.

3) Nencki, J. pr. Chem. N. F. Bd. XV. 390.

4) Röhmann, Chem. Ber. 30. 1978. 31. 2188.

5) Auch für das Tyrosin muss auf die ausführliche Darstellung bei Gamgee, l. c. S. 256, verwiesen werden.

6) Radziejewski, Virch. A. 36. 1. Kühne, Untersuch. physiol. Inst. Heid. I. 317.

7) Erlenmeyer u. Lipp, Chem. Ber. XV. 1544.

8) E. Fischer, Chem. Ber. 32. 2451 (1899).

Asparaginsäure wurde als Abbauproduct der Eiweisskörper gefunden von Ritthausen und Kreussler[1]) (bei pflanzlichen Proteïnen) sowie von Hlasiwetz und Habermann.[2]) Bei der tryptischen Verdauung fanden sie Radziejewski und Salkowski[3]) beim Fibrin, v. Knieriem[4]) beim Kleber. Es ist eine Amidobernsteinsäure

$$\begin{array}{l} CH \begin{cases} NH_2 \\ COOH \end{cases} \\ | \\ CH_2 \cdot COOH. \end{array}$$

Leicht löslich in heissem Wasser, schwer in kaltem, unlöslich in Alkohol. Dreht links. Characteristisch ist ihr Kupfersalz. Die inactive synthetische Asparaginsäure ist ebenso wie die Glutaminsäure von E. Fischer[5]) durch das Brucinsalz der Benzoylverbindung in die beiden optischen Componenten gespalten worden.

Glutaminsäure wurde aus pflanzlichen Proteïnen ebenfalls von Ritthausen und Kreussler[1]) erhalten, aus thierischen durch Salzsäure und Zinnchlorür von Hlasiwetz und Habermann[2]), durch Schwefelsäure von Kutscher,[6]) bei der Pancreasverdauung durch v. Knieriem.[4])

Es ist eine Amidoglutarsäure

$$CH_2 \begin{cases} CH \begin{cases} NH_2 \\ COOH \end{cases} \\ CH_2 \cdot COOH. \end{cases}$$

Schwer löslich in Wasser, unlöslich in Alkohol. Schmelzpunkt 135—140°. Giebt ebenfalls ein characteristisches Kupfersalz.

Die Hexonbasen. Der durch Phosphorwolframsäure fällbare Theil der tryptischen Zersetzungsproducte enthält drei Basen, die Kossel als Hexonbasen zusammengefasst hat: das Lysin, das Arginin und das Histidin.

Lysin wurde als Spaltproduct des Caseïns von Drechsel[7]) entdeckt und dann von ihm und seinen Schülern näher erforscht. In den tryptischen Verdauungsproducten fand es Hedin.[8]) Isolirt wird es am besten als Picrat (Kossel).[9]) Es ist eine 1,5 Diamidocapronsäure

---

1) Ritthausen u. Kreussler, J. pr. Ch. N. F. III. 314.
2) Hlasiwetz u. Habermann, Lieb. Ann. 159. 304. 169. 150.
3) Radziejewski u. Salkowski, Chem. Ber. VII. 1050 (1874).
4) v. Knieriem, Zeitsch. f. Biol. XI. S. 198.
5) E Fischer, Chem. Ber. 32. 2451 (1899).
6) Kutscher, Z. phys. Ch. 28. 123.
7) Drechsel, Abbau der Eiweisskörper (zusammenfassende Arbeit) Du Bois Arch. 1891. S. 248; ferner Chem. Ber. 25. 2454.
8) Hedin, Du Bois Arch. 1891. S. 273.
9) Kossel, Z. phys. Ch. 26. 586.

(Ellinger),[1]) da es bei der Fäulniss Cadaverin (Pentamethylendiamin) liefert.

$$CH_2(NH_2) \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH\begin{matrix} NH_2 \\ COOH. \end{matrix}$$

Es dreht rechts.

Es bildet eine Dibenzoylverbindung (Lysursäure), deren saures Barytsalz sehr characteristisch ist (Drechsel).[2])

Arginin $C_6H_{14}N_4O_2$ wurde entdeckt von Schulze und Steiger[3]) in Lupinenkeimlingen (1886). Hedin wies es als Spaltproduct der Eiweisssubstanzen[4]) und der Hornsubstanz,[5]) Kossel[6]) als das der Protamine nach. Kutscher[7]) erhielt es bei der künstlichen Trypsinverdauung. Ueber die Constitution geben Aufschluss die Arbeiten von Schulze und Likiernik,[8]) Schulze und Winterstein,[9]) Ellinger[10]) (indirect durch seine Aufklärung des Ornithins).

Das Arginin ist demzufolge als das Kreatin der 1,4 Diamidovaleriansäure (des Ornithins) aufzufassen. Seine Formel ist demgemäss

$$(NH) = C\begin{matrix} NH_2 \\ NH- \end{matrix}CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH\begin{matrix} NH_2 \\ COOH. \end{matrix}$$

Es liefert deshalb bei der Spaltung mit Barytwasser Harnstoff und Diamidovaleriansäure (Ornithin).

Schulze und Winterstein[11]) haben es der Kreatinsynthese analog aus Ornithin und Cyanamid synthetisch dargestellt. Das pflanzliche Arginin ist von dem thierischen etwas verschieden.

Das Arginin und seine Salze wurden von Gulewitsch[12]) genau untersucht. Die Base selbst krystallisirt in rosettenartigen Drüsen vom Schmelzpunkt 207⁰. Besonders characteristisch ist das saure Doppelsalz mit Silbernitrat.

Histidin: Histidin wurde von Kossel[13]) bei der Spaltung des Sturins durch verdünnte Schwefelsäure erhalten, von Hedin[14]) und

1) Ellinger, Chem. B. 32. (1899).
2) s. Clara Willdenow, Z. phys. Ch. 25. 523.
3) Schulze und Steiger, Z. phys. Ch. XI. 43. Ber. chem. Ges. XIX. 1177.
4) Hedin, Z. phys. Ch. XXI. 155.
5) Hedin, ibid. XX. 186.
6) Kossel, ibid. 22. 184. Kossel und Matthews, ibid. XXV. 190.
7) Kutscher, ibid. XXV. 195.
8) Schulze und Likiernik, Chem. Ber. XXIV. 2701.
9) Schulze und Winterstein, Z. phys. Ch. 23. 1. Chem. Ber. 30. 2879.
10) Ellinger, Ber. chem. Ges. 31. 3183.
11) Schulze und Winterstein, Ber. chem. Ges. 32. 3191 (1899).
12) Gulewitsch, Z. phys. Ch. 27. 178. 368.
13) Kossel, Z. phys. Ch. 22. 176. 14) Hedin, ibid. 22. 191.

Schulze und Winterstein[1]) dann als Spaltproduct der Eiweisskörper nachgewiesen. Bei der Pancreasverdauung fand es Kutscher.[2])

Ueber seine chemischen Eigenschaften ist noch wenig bekannt.[3]) Es scheint die Formel $C_6H_9N_3O_2$ zu haben. Es wird als Silberverbindung abgeschieden.

Glycocoll: Amidoessigsäure $CH_2 < {NH_2 \atop COOH}$,

längst bekannt als Spaltproduct des Leims, wurde erst in jüngster Zeit von Spiro[4]) unter den Spaltproducten der genuinen Eiweisskörper mit Hilfe eines neuen Verfahrens aufgefunden.

Tryptophan: Unter dem Namen Tryptophan,[5]) früher Proteïnochromogen fasst man einige bislang unbekannte Substanzen zusammen, die bei der Spaltung der Eiweisskörper, auch durch Trypsin vorkommen, und dadurch characterisirt sind, dass sie mit den Halogenen (Chlor, Brom) eine Rothfärbung geben. Diese Rothfärbung wurde zuerst von Tiedemann und Gmelin[6]) beobachtet. Claude Bernard[7]) zeigte dann, dass diese Reaction sich erst nach Beginn der Zersetzung resp. Fäulniss zeigte, vermischte sie indessen mit der ähnlichen Reaction, die das nur bei der Fäulniss entstehende Indol resp. Naphthylamin, als welches man das Indol zuerst angesprochen hatte (vgl. auch Hemala),[8]) zeigt, ein Irrthum, der dann durch Kühne[9]) aufgeklärt wurde.

Nencki[10]) untersuchte die Bromverbindungen und fand, dass mindestens zwei Körper entstehen, die wahrscheinlich der Indigogruppe angehören. Beim Schmelzen mit Kali erhielt er Pyrrol, Indol etc. Bei Untersuchung des Bromproductes erhielt Kurajeff[11]) drei verschiedene Körper. Das Chlorproduct untersuchte Beitler,[12]) dem es gelang, durch Silberoxyd daraus einen chlorfreien, basischen Körper zu erhalten. Das sogenannte Tryptophan ist schwer löslich in Wasser, Alkohol, Aether, leichter in Amylalkohol.[8])

---

1) Schulze und Winterstein, Z. phys. Ch. 28. 459 (1899).
2) Kutscher, ibid. 25. 195.
3) s. Kossel und Kutscher, ibid. 28. 382 (1899).
4) Spiro, Z. phys. Ch. 28. 174 (1899).
5) Der Name rührt von Neumeister her, Z. f. Biol. 26. 329.
6) Tiedemann und Gmelin, Verdauung nach Versuchen. Heidelberg. 1826. S. 31.
7) Cl. Bernard, Compt. Rend. 1856. I. Suppl. S. 403.
8) Hemala, Krukenberg's Chem. Unters. z. wissensch. Medizin. II. (1888). S. 119.
9) Kühne, Chem. B. VIII. 206.
10) Nencki, Chem. B. 28. S. 560.
11) Kurajeff, Z. ph. Ch. 26. 501.
12) Beitler, Chem. B. 31. 1604. Stadelmann, Z. f. Biol. 26. 491.

Verschiedenheiten der tryptischen Verdauung der Eiweissstoffe und Albuminoide: Im Allgemeinen verläuft der tryptische Spaltungsprocess ziemlich gleichmässig. Nur die quantitativen Verhältnisse der einzelnen Producte sind verschieden. Die Gelatine wird sehr leicht von Trypsin angegriffen und deshalb ihre Anwendung von Fermi[1]) zum Nachweis des Trypsins vorgeschlagen.

Die Trypsinverdauung des Caseïns wurde zuerst von Sebelien untersucht. Biffi[2]) fand dann, dass das Caseïn bis auf einen geringen, fast phosphorfreien Rückstand verdaut wird. Er fand ferner ziemlich viel Tyrosin, Caseïnalbumosen und Caseïnantipepton. Der Phosphor wird zum Theil als Phosphorsäure abgespalten, zum Theil in anderer, fester gebundenen Form. Ueber die tryptische Verdauung anderer Nucleoproteïde und der Nucleïne liegen genauere Untersuchungen nicht vor, doch fand Kutscher[3]) bei Autodigestion des Pancreas Xanthin, Hypoxanthin und Guanin, die wohl aus der Spaltung der Zellkernsubstanzen herrühren. Andererseits giebt Bokay[4]) an, dass die Nucleïne der tryptischen Verdauung widerstehen.

Ein specifisch auf Paracaseïn wirkendes proteolytisches Ferment, dem sie den höchst unpassenden Namen Galactase gegeben haben, wollen Babcock und Russell[5]) in reifendem Käse aufgefunden haben. Es soll am besten in schwach alkalischen Medien wirken, dem Trypsin ähnlich, aber nicht damit identisch sein.

Die Selbstverdauung der Organe: An die proteolytischen Fermente schliesst sich am besten die Besprechung einer merkwürdigen Erscheinung an, bei der ähnliche Wirkungen auftreten, nämlich die sog. Selbstverdauung der Organe, die besonders von Salkowski und seinen Schülern untersucht worden ist. Es handelt sich dabei um langsame Spaltungen von Eiweissstoffen u. a. bei Ausschluss von Fäulniss (durch Chloroformwasser), die Salkowski zuerst an der Hefe,[6]) dann aber namentlich an thierischen Organen untersuchte.[7]) Er digerirte fein zerhackte, blutfrische Organe mit der zehnfachen Menge Chloroformwasser und fand, dass in diesen selbstverdauenden Organen sich Leucin und Tyrosin, reducirende Zucker etc., vorfinden, die alle in den frischen Organen fehlen und auch dann nicht nachweisbar

1) Fermi, Maly's Jb. 1892. 592.
2) Biffi, Virch. A. 152. 130.
3) Kutscher, Endprod. d. Trypsinverd. 1899. Habilit.-Schr.
4) Bokay, Z. phys. Ch. I. 157.
5) Babcock und Russell, Chem. Centralbl. 1900. I. S. 430.
6) Salkowski, Z. phys. Ch. XIII.
7) id. Z. f. klin. Med. XVII. Suppl.

sind, wenn die Organe vor der Digestion gekocht, also die supponirten Enzyme verschwunden waren.

Auch mehr freie Nucleïnbasen fand er als in frischen Extracten, wodurch er die Angaben von Salomon[1]) bestätigen konnte.

Die Annahme von proteolytischen Fermenten wurde dann durch Schwiening[2]) näher begründet, der in zellfreien Extracten dieselben Resultate erzielte.

Auch Biondi[3]) fand in den „verdauten" Kalbslebern Xanthinbasen, im Controlversuch dagegen nicht und glaubt annehmen zu dürfen, dass sie sich vielleicht aus Nucleoproteïden durch Spaltung bilden. Ferner fand er im Hauptversuch Albumosen und Leucin. Von der tryptischen Verdauung mit Pancreaspulver unterschied sich dieser Process dadurch, dass bei der letzteren Peptone und Tryptophanreaction nachweisbar waren, die bei der Selbstverdauung fehlen und dass die tryptische Verdauung mehr organische Substanz löste; besonders aber dadurch, dass die nucleïnspaltende Wirkung dem Pancreasfermente fehlt.[4])

Fluornatrium und Thymol erwiesen sich als weniger geeignet wie Chloroform. Alkali hindert die Autodigestion (Schwiening), die Wirkung von Säuren ist schwer zu erkennen, sie scheinen indessen jedenfalls in geringer Concentration nicht zu stören.

1) Salomon, Du Bois Arch. f. Phys. 1881. 361.

2) Schwiening, Virch. A. **136** (1894).

3) Biondi, Virch. A. **144**. 373 (1896).

4) Dass indessen auch Trypsin wenigstens bei der Autodigestion des Pancreas Nucleïne spaltet, haben wir oben gesehen.

Elftes Capitel.

Die bacteriolytischen und hämolytischen Fermente.

Proteolytische Fermente spielen unzweifelhaft bei den besonders in jüngster Zeit lebhaft erforschten Erscheinungen der Bacteriolyse und Hämolyse eine entscheidende Rolle. Doch sind diese Vorgänge so eigenartiger Natur, dass wir sie gesondert besprechen müssen.

Schon seit längerer Zeit war man besonders durch die Arbeiten von Hans Buchner und seinen Schülern auf die Fähigkeit des Blutserums aufmerksam geworden, eingedrungene Bacterien zu vernichten. Man nahm zur Erklärung dieses Phänomens die Existenz besonderer Schutzstoffe, der Alexine an, denen man eine grosse Wichtigkeit bei der Herbeiführung sowohl der angeborenen als der erworbenen Immunität zuschrieb. Es kann hier um so weniger meine Aufgabe sein, die ganze Frage der Alexine und die gewaltige Litteratur über diese Dinge zu besprechen, als Buchner selbst erst vor kurzem [1]) dem Gedanken Worte lieh, dass es sich bei diesen Vorgängen um die Wirkungen proteolytischer Fermente handelt. Wir haben also nur die Aufgabe, die eigenthümliche Art und Wirkungsweise dieser Fermente zu besprechen.

Die Fermente, die die Vernichtung eingedrungener Bacterien innerhalb der Blutbahn bewirken, sind nicht ohne Weiteres den gewöhnlichen, auf alle Eiweisssubstanzen wirkenden proteolytischen Fermenten gleichzustellen, sondern sie unterscheiden sich von ihnen scharf durch ihren streng specifischen Character.

Zwar enthält auch das normale Blutserum eine sehr geringe Menge einfachen proteolytischen Fermentes, und diese Thatsache kann, wie wir später sehen werden, mit Nutzen bei der Erklärung herangezogen werden, indessen genügt die Anwesenheit dieser Enzyme nicht, um die Deutung der specifischen bacteriolytischen Fermente zu ermöglichen.

---

1) Buchner, Münch. Med. Woch. 1899. 39. 40.

Hier handelt es sich um die Thatsache, dass bei der activen Immunisirung eines Thieres, speciell gegen Cholera und Typhus, sich bacteriolytische Stoffe im Blutserum bilden, die im Stande sind, innerhalb des Körpers nur diejenigen Bacterien zu vernichten, gegen deren Wirkung das Thier immunisirt ist; so vernichtet das Choleraantiserum nur die Choleravibrionen, das des Typhus nur die Typhusbacillen.

Man könnte also annehmen, dass sich in dem Immunserum der Cholera ein Stoff befinde, der im Stande ist, als specifisch eingestelltes proteolytisches Ferment die Zellleiber der Choleravibrionen zu vernichten. Es würden hier also Fermente vorliegen, die mit einer so subtilen Differenzirung der Specifität der Fermentwirkung begabt sind, dass dagegen die anderen specifischen Fermente nur ganz grobe Unterschiede zu zeigen scheinen. Denn während es sich sonst um grosse Körperclassen handelt, die ihre specifischen Fermente besitzen, respectirt das Choleraimmunferment sogar die feinen Unterschiede des Zellprotoplasmas in der Weise, dass es Typhusbacillen nicht angreift.

Eine sehr merkwürdige und theoretisch bedeutungvolle Erweiterung unserer Kenntnisse brachten die denkwürdigen Versuche von Pfeiffer.[1]) Das „Pfeiffer'sche Phänomen" zeigt uns folgendes:

Wenn man das Serum eines gegen Cholera immunisirten Thieres ausserhalb des Körpers auf seine bacteriolytische Kraft prüft, so findet man, dass diese Kraft durchaus nicht grösser ist, als die geringe, auf die oben erwähnte Anwesenheit proteolytischer Fermente im Serum zurückzuführende bacteriolytische Kraft des normalen Serums. Auch diese geringe Fähigkeit kann man übrigens dem Serum noch, z. B. durch Erwärmen auf 55° völlig nehmen, so dass es nun den Vibrionen gegenüber machtlos ist.

Bringt man aber dieses inactive Serum in den Organismus zurück, spritzt man es z. B. zusammen mit lebenden Vibrionen in die Bauchhöhle ein, so entfaltet es sofort seine intensive Wirkung auf die Vibrionen, und nur auf diese, während z. B. Typhusbacillen unverändert bleiben. Es wird also die latente Fähigkeit des Immunserums innerhalb des Organismus durch irgend ein Agens wieder aufgefrischt. Dass es sich hierbei aber nicht etwa um vitale Fähigkeiten des Organismus handelt, zeigten die Versuche von Metschnikoff[2]) und Bordet.[3]) Dasselbe Resultat kann man nämlich erzielen, wenn man unter Umgehung des lebenden Organismus zu dem inactiven Immun-

---

1) Pfeiffer, D. med. W. 1896. 7. u. 8.
2) *Metschnikoff, Ann. Inst. Pasteur. IX. (1895).
3) *Bordet, Ann. Inst. Pasteur. IX. (1895). cit. n. Ehrlich, l. c.

serum frisches normales Blutserum zuführt. Dieser Zusatz genügt, um dem vorher inactiven Serum die Fähigkeit der Bacteriolyse im vollen Maasse zu verleihen. Es liegt hier also der Fall vor, dass durch den Zusatz eines im Blutserum normalerweise enthaltenen Agens die latente proteolytische Kraft der Immunsera wieder in die Erscheinung tritt.

Man könnte zu der Erklärung neigen, dass vielleicht in dem inactiven Immunserum ein Proferment vorhanden sei, das durch ein zymoplastisches Agens des Blutserums activirt würde. Doch ist diese Vermuthung durch nichts zu begründen: wir kennen als zymoplastische Substanzen vor Allem verdünnte Säuren, während das Blutserum alkalisch ist; ferner aber finden wir niemals eine zymoplastische Wirksamkeit des Blutserums, während wir im Gegentheil sehr häufig eine direct fermenthemmende Wirkung desselben sehen.

Bevor wir uns nun zu den Erklärungsversuchen, welche man für diese Erscheinung gemacht hat, wenden, müssen wir zunächst die sehr ähnlichen und theoretisch bedeutsamen Phänomene der Hämolyse schildern. Bordet[1]) fand zuerst, dass durch Injection von Kaninchenblut in die Blutbahn eines Meerschweinchens das Serum dieses Thieres die Fähigkeit erlangt, die rothen Blutkörperchen des Kaninchens in vitro aufzulösen. Diese Fähigkeit kann man durch Erwärmen auf 55° vernichten, indessen durch Zusatz von normalem Serum wieder herstellen. Der Fall liegt also ganz ähnlich wie bei den Bacteriolysinen. Ehrlich und Morgenroth[2]) haben diese Versuche wiederholt und erweitert. Sie injicirten einer Ziege Hammelblut; dadurch erlangte das Ziegenserum die Fähigkeit, die Erythrocyten des Hammels aufzulösen. Diese Kraft geht beim Erwärmen verloren, wird aber durch normales Serum wiederhergestellt; doch muss dieses Serum frisch sein, da es sonst die Fähigkeit der Reacticirung verliert, selbst wenn man es im Dunkeln und auf Eis aufbewahrt. Ehrlich schliesst aus diesen Versuchen folgendes:

Sowohl bei der Bacteriolyse wie bei der Hämolyse handelt es sich um eine Immunisirung gegen einen eingedrungenen protoplasmatischen Schädling, sei dieser nun ein Bacterium oder ein Erythrocyt. Der Träger dieser immunisirenden Wirkung ist ein Immunkörper. Dieser Immunkörper ist ganz analog den Antitoxinen und seine Entstehung wird wie die der Antikörper aus der Seitenkettentheorie von Ehrlich erklärt. Diese besagt bekanntlich, dass sich die in den Organismus eindringenden Schädlinge, mögen dieselben nun Toxine

1) *Bordet, Ann. Inst. Pasteur. XII.
2) Ehrlich und Morgenroth, Berl. klin. W. 1899. 2. 22.

oder Zellgebilde sein, mit Hilfe ihrer „haptophoren“ Gruppen an die Seitenketten der angegriffenen Zellen binden, und dass die im Uebermaass producirten Seitenketten, die dann in der Blutbahn kreisen, die specifischen Immunkörper bilden.[1]) Diese sind zum Theil antitoxischer Natur; d. h. im Stande, die eingedrungenen, resp. von den Bacterien abgesonderten Gifte zu paralysiren. Solche antitoxische Eigenschaften haben nun die Immunsera, die bacteriolytische Fähigkeiten besitzen, nicht. Pfeiffer[2]) hat nachgewiesen, dass sie gegen die Giftwirkung, z. B. der Choleravibrionen machtlos sind. Injicirt man dem Versuchsthier virulente Choleraculturen und einige Stunden nachher Immunserum, so geht das Thier in Folge der Giftwirkung zu Grunde, obwohl die Erscheinungen der Bacteriolyse in vollem Maasse vorhanden sind.

Im gewöhnlichen Zustande, besonders aber nach dem Erwärmen auf 55^{0}, zeigt aber auch das den Immunkörper enthaltende Serum keine bacteriolytischen Eigenschaften; dieselben treten vielmehr erst dann hervor, wenn dem an sich inactiven Immunkörper in dem frischen Serum ein Etwas zugefügt wird, dem Ehrlich den in nichts vorgreifenden Namen „Addiment“ gegeben hat. Dieses Addiment müssen wir nun als ein proteolytisches Enzym auffassen.

Im Sinne seiner Seitenkettentheorie denkt sich Ehrlich den Vorgang folgendermassen.

An den protoplasmatischen Schädling bindet sich zunächst durch die haptophoren Gruppen der Immunkörper. Dieser ist an sich ohne zerstörenden Einfluss auf den Zellleib, er hat aber andererseits die Fähigkeit, mit einer anderen haptophoren Gruppe das proteolytische Enzym, das Addiment an sich zu binden und dadurch dessen wirksame Gruppe, die „zymophore“[3]) Gruppe in die Nähe des Schädlings zu bringen, und dadurch wieder dessen Zerstörung zu veranlassen. Darin also, dass er das im Blute vorhandene, aber sehr verdünnte und spärliche Enzym auf den Eindringling concentrirt, dem er specifisch angepasst ist, beruht die specifische Function des Immunkörpers, das proteolytische Ferment braucht also nicht specifisch zu sein. Zur Unterstützung dieser Auffassung konnte

1) Wegen der Seitenkettentheorie muss ich auf die Arbeiten von Ehrlich verweisen, bes. im Klin. Jahrb. Bd. 6. s. a. mein Referat im Biol. Centralbl. 1899. S. 799.

2) Pfeiffer, D. med. Woch. 1896. No. 7 u. 8.

3) Diesen Terminus braucht Ehrlich nicht, ich habe ihn nur zur Versinnbildlichung der Analogie mit den Toxinen angewendet. Uebrigens bemerke ich, dass Ehrlich's Schüler, Morgenroth, sich ebenfalls seiner bedient (cf. C. f. Bact. 1899. l. c.), allerdings beim Labferment.

Ehrlich nachweisen, dass sich der addimentfreie Immunkörper (nach dem Erwärmen auf 55°) quantitativ an die ihm angepassten Erythrocyten bindet, während diese aus reinen „Addiment"lösungen keine Spur desselben aufnehmen. Bringt man aber die Erythrocyten in eine Lösung, die Immunkörper und Addiment enthält, so wird ein Theil des letzteren ebenfalls gebunden; d. h., da es sich nicht direct an die Blutkörperchen bindet, so muss es indirect, d. h. durch Vermittlung des Immunkörpers an sie gebunden sein.

Wir haben also zur Erklärung der Bacteriolyse und Hämolyse anzunehmen, dass ein an sich zu schwaches, nicht specifisches proteolytisches Ferment durch Vermittlung eines specifischen Zwischenkörpers, des Immunkörpers, auf den Zellleib so concentrirt wird, dass es nunmehr seine fermentative, eiweisslösende Wirkung entfalten kann. Dieser Auffassung ist nunmehr von verschiedenen Seiten widersprochen worden. Emmerich und Löw[1]) haben gefunden, dass das Ausbleiben der Bacteriolyse in dem Pfeiffer-schen Versuch nicht erfolgt, wenn man das Immunserum unter Abschluss von Sauerstoff mit den Vibrionen zusammenbringt. Hier ist also ein erneuter Zusatz von Addiment, d. h. proteolytischem Enzym nicht nöthig. Es ist aber einfach, dafür als Erklärung anzunehmen, dass das vorhandene Enzym bei Abwesenheit von Sauerstoff nicht so schnell zerstört wird, als bei Gegenwart desselben. Ob auch nach dem Erwärmen auf 55° die Bacteriolyse noch eintritt, wo also das ursprüngliche Addiment vernichtet wäre, geben sie nicht an.

Von einem anderen Standpunkt aus bekämpft Buchner[2]) die Ehrlich'schen Schlussfolgerungen.

Er tritt für eine völlige Trennung des Immunkörpers von dem proteolytischen Ferment, dem Alexin, ein. Indem er die Befunde Ehrlich's vollinhaltlich bestätigt, zieht er daraus andere Schlussfolgerungen. Der gegen Erwärmen auf 55° beständige Immunkörper ist specifisch, bindet sich also an das Substrat; das durch Hitze zerstörbare Ferment, das Alexin = dem Addiment Ehrlich's ist nicht specifisch, bindet sich also auch nicht an das Substrat. Er hat für die Nichtspecifität des Ferments, die ja auch Ehrlich annimmt, noch den schönen Beweis geliefert, dass auch das Serum einer dritten, fremden Thiergattung als proteolytisches Ferment fungiren kann, und dass auch das eigene Serum der anzugreifenden Erythrocyten diese Function erfüllen kann. Alles dies stimmt mit Ehrlich's Ansichten durchaus überein: auch Ehrlich vindicirt die Specifität aus-

1) Emmerich und Löw, Z. f. Hyg. 1899. 1.
2) Buchner, Münch. med. Woch. 1900. S. 277.

schliesslich dem Immunkörper; der Unterschied liegt darin, dass Ehrlich einerseits dem Immunkörper als solchem gar keine schädlichen Wirkungen auf den Eindringling zuschreibt, und dass er die Wirkung des Fermentes nur durch Vermittlung des Antikörpers herbeigeführt sehen will, während Buchner zwar die beiden Processe der Bindung durch den specifischen Immunkörper und der Auflösung durch das Alexin völlig von einander scheiden will, aber dafür dem Immunkörper als solchem schon einen Einfluss auf das Protoplasma und zwar einen für die Alexinwirkung disponirenden zuschreibt. Erst durch die Einwirkung des Antikörpers wird der Bacillus resp. der Erythrocyt so beeinflusst, dass er dem Alexin zur Beute fällt.[1]) Nun wäre dies eigentlich nur ein Streit um Worte, wobei Ehrlich eben das „disponirende Moment" genauer dahin präcisirt, dass das Ferment durch den Immunkörper in ganz bestimmter Weise auf den Zellleib hin gerichtet wird. Indessen liegt der Unterschied doch tiefer. Buchner sieht einen thatsächlichen directen schädigenden Einfluss des Immunkörpers an sich auf den Zellleib in dem Phänomen der Agglutination. In der That zeigen die vom Addiment befreiten Sera noch die Eigenschaft, die Blutkörperchen zu verkleben (Bordet l. c.), und ebenso verhalten sich die Immunsera gegen Bacterien. In dieser Alteration der obersten Schichten des Zellprotoplasmas sieht Buchner den Ausdruck einer schädigenden Kraft des reinen Immunkörpers. Erst die so geschädigte Zelle soll dann für die Alexine angreifbar sein, während sie die nicht so vorbereitete Zelle nicht angreifen können. Dagegen wendet Ehrlich ein, dass es nicht angängig sei, die Agglutinine ohne Weiteres mit den specifischen Antikörpern zu identificiren, da die beiden Vorgänge: Bacteriolyse und Agglutination durchaus nicht stets miteinander verbunden sind.

Im Uebrigen ist auch nicht einzusehen, warum nicht in dem Fall, dass thatsächlich die Agglutination eine ständige Function des Immunkörpers ist, die sicher stattfindende, auch von Buchner angenommene Bindung desselben an das Zellprotoplasma auch mikroskopisch wahrnehmbare Aenderungen in der Zellstructur mit sich bringen sollte.

Andererseits spricht gegen die Annahme Buchner's, dass die Alexinwirkung eine zwar durch die vorhergehende Immunkörperwirkung bedingte, aber von ihr unabhängige Erscheinung sei, die von Ehrlich constatirte Thatsache der indirecten Bindung des Fermentes an das Substrat, eben durch Vermittlung des Immunkörpers.

1) s. d. Trumpp, Z. f. Hyg. 33. S. 70.

Wenn man also die Ehrlich'sche Theorie in dieser Beleuchtung mit den Buchner'schen Ansichten vergleicht, so sieht man, dass eigentlich ein tieferer Widerspruch thatsächlich nicht existirt; wenn man die bisher unentschiedene Frage nach der Selbstständigkeit der Agglutinine ausschaltet, so finden wir bei beiden specifische Antikörper und unspecifische proteolytische Enzyme. Nur durch die gemeinsame Wirkung beider Agentien kommt die Plasmatolyse[1]) zu Stande. Der einzige Unterschied von Bedeutung bleibt dann der, dass Buchner nur eine gewisse Schwächung der Zellstructur, die zur Einwirkung des Fermentes disponirt, annimmt, während Ehrlich auf dem Boden seiner Seitenkettentheorie, die Buchner in ihren letzten Consequenzen nicht anerkennt, eine, allerdings rein hypothetische, bildliche Vorstellung von dem gegenseitigen Verhältniss von Immunkörper und Ferment entwickelt.

In einem Punkte hat Buchner allerdings völlig Recht: wenn er nämlich energisch den Ausdruck „Reactivirung des Immunkörpers" ausrotten will. Die specifische bacteriolytische resp. hämolytische Function ist, wie die Auseinandersetzungen ergeben haben, nicht das Product einer einheitlichen specifisch bactericiden Substanz. Die Wirkung wird jedenfalls zu Stande gebracht durch die combinirte Wirkung eines weder inactivirbaren, noch „reactivirbaren" Immunkörpers, der specifisch ist und eines ebenfalls nicht „reactivirbaren", aber leicht zerstörbaren und neu zuzusetzenden nicht specifischen proteolytischen Fermentes.

Aber eine solche „Re"-activirung nimmt ja auch Ehrlich nicht an, sondern nur eine Activirung durch ein irgendwie von dem Immunkörper gebundenes, nicht specifisches proteolytisches Ferment des Serums.

Eine tiefgreifende Differenz zwischen den Ansichten Ehrlich's und Buchner's scheint mir also in diesem Punkte nicht vorzuliegen.

Das proteolytische Ferment, das Alexin Buchner's, das Addiment Ehrlich's findet sich also in jedem frischen Serum. Ueber seine Natur vermögen wir nichts weiter auszusagen, als dass es sowohl gegen Wärme, als auch gegen Luft und Licht, auch wohl gegen die Alkalescenz des Blutes weitaus empfindlicher ist, als alle anderen bekannten proteolytischen Fermente. Versuche zu seiner Isolirung sind noch nicht gemacht.

1) Es dürfte sich wohl empfehlen, für die so ähnlichen Phänomene der Bacteriolyse und Hämolyse und noch einige verwandte einen gemeinsamen Namen zu schaffen. „Plasmolyse" und „Cytolyse" sind leider von den Botanikern für andere Dinge verbraucht; vielleicht lässt sich das Wort „Plasmatolyse" verwenden.

Eine besonders lebhafte Discussion hat die Frage nach der Bedeutung der Leucocyten für die Bildung der bacteriolytischen Stoffe erweckt. Pfeiffer[1]) konnte nachweisen, dass die bacteriolytischen Vorgänge in sehr leucocytenreichen Flüssigkeiten nicht intensiver verlaufen, als in gewöhnlichem Serum, und Moxter,[2]) der die Auflösung direct unter dem Mikroskop beobachtete, konnte dies bestätigen. Andererseits hat es namentlich Buchner[3]) sehr wahrscheinlich gemacht, dass die zur Bacteriolyse nöthigen Fermente (Alexine) jedenfalls zum grössten Theile den Leucocyten entstammen, wie ja auch Eiter und andere leucocytenreiche Medien kräftige proteolytische Wirkungen entfalten (Leber).[4]) Vielleicht darf man sich die Sache so zurechtlegen, dass zwar die leucocytenreichen Flüssigkeiten mehr Alexine enthalten, dass aber eine gegebene Menge Immunkörper auch im Serum reichlich genug Ferment vorfindet, um eine maximale Bacteriolyse zu bewirken, und dass ein Ueberschuss von Ferment den Process nicht weiter intensivirt. Damit wäre eigentlich unser specielles Interesse an diesem Thema erschöpft; denn die anderen Factoren dieses Processes, die Immunkörper sind keine Fermente; indessen sind sie doch so eng mit der ganzen Frage nach der Plasmatolyse verknüpft, dass wir sie noch kurz besprechen wollen.

Die Frage nach ihrer Entstehung wollen wir hier nicht weiter aufrollen. Sie deckt sich mit der grossen Streitfrage nach der Entstehung der Antikörper überhaupt. Während Ehrlich u. A. annehmen, dass die Antikörper Abwehrproducte des angegriffenen Organismus sind, nehmen Buchner und seine Anhänger sie als modificirte Bacterienstoffe in Anspruch. Als Entstehungsorte der Schutzstoffe haben Pfeiffer und Marx[5]) in erster Linie Milz und Knochenmark nachgewiesen.

Nicht zu verwechseln mit diesen specifisch bacteriolytischen Stoffen sind die den Leucocyten entstammenden einfach bactericiden Stoffe, von denen namentlich die Nucleïnsäure von A. und H. Kossel[6]) in ihrer Bedeutung klargestellt worden ist.

---

1) Pfeiffer, D. med. Woch. 1896. No. 7 u. 8.
2) Moxter, D. med. Woch. 1899. No. 42 (Litteratur).
3) Buchner, Münch. med. W. 1900. S. 277.
4) Leber, Entstehung der Entzündg. Leipzig 1891. cit. n. Buchner, l. c.
5) Pfeiffer und Marx, Z. f. Hyg. 27.
6) A. und H. Kossel, Z. f. Hyg. 27 (Litteratur).

Zwölftes Capitel.

Proteolytische Pflanzenfermente.

Schon früh hatte man in keimenden Pflanzentheilen stickstoffhaltige lösliche Stoffe aufgefunden, die sich dann als Abbauproducte der Eiweissspaltung durch chemische oder fermentative Einwirkungen herausstellten.

Das erste war das Asparagin, das Vauquelin und Robiquet[1]) im Spargel fanden, und die Glutaminsäure, die Schulze und Barbieri zuerst in Kürbiskeimen fanden, neben Asparagin und Ammoniak. Später wurde dieses Forschungsgebiet besonders von E. Schulze[2]) und seinen Schülern bearbeitet.

Als dann Gorup-Besanez[3]) in gekeimten Wicken neben Asparagin und Glutaminsäure auch Leucin gefunden hatte, das eins der Hauptspaltproducte der Eiweissstoffe ist, sowie Schulze in Lupinenkeimlingen Peptone, da lag der Gedanke sehr nahe, dass auch in den Pflanzenkeimen, die ja ähnlich dem thierischen Organismus ohne Assimilation sich von aufgespeicherten Nährstoffen erhalten müssen, neben den längst bekannten diastatischen Fermenten auch proteolytische vorkommen. In der That gelang dann kurz darauf Gorup-Besanez[4]) die Isolirung eines gleichzeitig diastatischen und proteolytischen Fermentes aus Wickenkeimlingen, und ferner aus Hanf, Leinsamen, Gerste.[5]) In letzteren fand er aber kein Leucin und Tyrosin, sondern nur Peptone. Aus Lupinenkeimlingen konnte er indessen kein Ferment isoliren. Dagegen erhielt Green[6]) aus

1) Citirt nach Piria, Annal. d. chim. et. phys. (III.) 22. S. 160.

2) s. Schulze und seine Schüler: Landwirthsch. Jahrb. V. 821. VI. 681. VII. 411. IX. 689. (dort Litteratur).

3) v. Gorup-Besanez, Ber. d. d. chem. Ges. VII. 146 (1874).

4) v. Gorup-Besanez, Ber. d. d. chem. Ges. VII. 569. 1478.

5) id., Chem. Ber. VIII. 1510. s. a. Sitzb. d. Erlanger Phys. med. Soc. vom 8. XI. 1874.

6) Green, Philos. Transact. Royal Soc. 178. (1887). 39.

keimenden Samen von Lupinus hirsutus ein Enzym, das „sogenannte" Peptone, Leucin und Tyrosin lieferte, aber nur in saurer Lösung wirkte. In den ruhenden Samen nimmt er das Vorhandensein eines Zymogens an.

Aus den Cotyledonen gekeimter Gartenbohnen gelang es van der Harst [1]), ein ähnliches Ferment zu isoliren. In den Blättern einiger Dicotyledonen hat Poehl [2]) pepsinähnliche Fermente gefunden. Neumeister [3]) widerlegte die Angaben von Krauch, [4]) der überhaupt keine Fermente gefunden hatte, konnte aber auch das Vorkommen in ungekeimten Wicken und Lupinen (Green l. c.) nicht bestätigen. Sonst aber fand er vielfach in Pflanzen proteolytische Fermente. Hansen [5]) fand in Wicken kein Enzym. Green [6]) entdeckte es noch in keimenden Samen von Ricinus communis, Daccomo und Tommasi [7]) in Anagallis arvensis. In zahlreichen Pflanzen und Pflanzentheilen, auch Wurzeln, Knollen etc. fanden Fermi und Buscaglioni [8]) proteolytische Fermente.

Ein fleischauflösendes Ferment soll nach Scheurer-Kestner [9]) beim Brodbacken entstehen.

Papaïn: In den Früchten und dem Milchsafte des Melonenbaums, Carica papaya, hat man schon frühzeitig einen Stoff gefunden, der eine energische Wirkung auf Fleisch hat, dasselbe mürbe und weich macht. Er wurde deshalb auch von den Eingeborenen der Antillen und Brasiliens als kulinarisches Hilfsmittel angewendet.

Die älteste Nachricht darüber stammt von Griffith Hughes [10]) aus dem Jahre 1750, sowie von Browne [11]) 1756. Ausführlichere Arbeiten über die botanische Kenntniss von Carica papaya finden sich bei Hooker [12]) und Wight. [13]) Dann hat namentlich Witt-

1) van der Harst, Naturforscher XI. S. 108 (1878).
2) Poehl, Ueber das Vork. u. d. Bildg. von Peptonen etc. Diss. Dorpat 1882. s. Biol. Centralbl. III. 252. B. d. d. chem. Ges. XIV. 1355.
3) Neumeister, Z. f. Biolog. XXX.
4) Krauch, Landwirthsch. Versuchsstat. **1879**. 78. **1882**. 303.
5) Hansen, Arb. a. d. botan. Inst. Würzburg. III. 281.
6) Green, Proc. Royal Soc. **48**. 370.
7) cit. v. Green, Ann. of. bot. VII. 112. s. a. Maly's Jb. 1892.
8) Fermi und Buscaglioni, C. f. Bact. (II.) V. 125 (1899).
9) Scheurer-Kestner, C. R. de l'Acad. **90**. S. 369.
10) *Hughes, Natural history of Barbadoes. 1750. Bd. VII. S. 181.
11) *Browne, Civil and natural hist. of Jamaica. 1756. S. 160.
12) *Hooker, Botan. Magazine New Ser. III. 2898 (1828).
13) *Wight, Illustr. of. Jnd. Bot. II. 1850. S. 34. (No. 10—13. citirt nach Wittmack s. u.).

mack [1]) sich mit der Pflanze beschäftigt, der auch das Ferment untersuchte.

Dies proteolytische Ferment aus dem Pflanzenreich, das dem Trypsin ähnlich ist, wurde wohl zuerst von Moncorvo [2]) aus dem Saft von Carica papaya dargestellt, der es Caricin nannte.

Beckolt [3]) hat die Pflanze und ihre Samen genau beschrieben und auch auf die Eiweiss lösende Kraft des Milchsaftes hingewiesen; er versuchte dieses Ferment zu isoliren, und nannte es Papayotin. Ferner hat Wittmack (l. c.) auch die chemische Wirksamkeit von Früchten und Milchsaft geprüft.

Wurtz [4]) hat es dann zuerst genauer untersucht, es auch in Stamm und Blättern der genannten Pflanze nachgewiesen und ihm den Namen Papaïn gegeben, der heute neben Papayotin allgemein gebräuchlich ist. Wurtz [5]) hat es aus dem wässerigen Extract des Saftes mit Alkohol gefällt, durch weitere Proceduren gereinigt und dann näher untersucht.

Er hält es für einen eiweissähnlichen Körper. Es ist in Wasser mit neutraler Reaction löslich, nicht diffusibel, trübt sich beim Kochen; Quecksilberchlorid giebt in der Kälte eine Trübung, beim Kochen einen Niederschlag. Blei eine im Ueberschuss lösliche Trübung, starke Mineralsäuren im Ueberschuss lösliche Niederschläge; Platinchlorid, Tannin, Essigsäure und Ferrocyankalium Niederschläge. Es giebt ähnliche Zahlen bei der Elementaranalyse wie Eiweissstoffe und enthält Schwefel.

Das Papaïn des Handels löst sich nach Martin [6]) nicht völlig in destillirtem Wasser.

Martin (l. c.) fand die Reactionen von Wurtz im Allgemeinen bestätigt. Sein Wasserextract enthielt ein Albumin, ein Globulin und zwei Albumosen. An eine von diesen ist das Ferment gebunden, von der es Martin [7]) nicht trennen konnte.

Er erhielt diese Albumose durch Extraction mit Glycerin und Fällung mit Natrium- und Magnesiumsulfat, oder Alkohol-Aether. Er nennt sie α-Phytalbumose. Sie ist identisch mit dem „Pflanzenpepton", der Hemialbumose von Vines. Sie ähnelt den Protalbumosen Kühne's, während die β-Phytalbumose mehr den Heteroalbumosen nahesteht. Das Globulin ist dem Myosin und Paraglobulin verwandt.

---

1) Wittmack, Sitz. Ber. d. Ges. naturforsch. Freunde. Berlin 1878. S. 40. Dort die ganze ältere Litteratur über Carica papaya und seine Wirkung im Allgemeinen.

2) *Moncorvo, Journal de Thérapie. VII. 6 (1880).

3) Beckolt, Zeitschr. d. allg. österr. Apothekervereins. XVII. 361. 373. Pharmaceutic. Journal IIIe Sér. X. 343. 383.

4) Wurtz und Bouchut, Comptes rendus. 89. S. 425 (1879).

5) Wurtz, Comptes rendus. 90. 1379 (1880).

6) Martin, Journ. of. Physiol. V. S. 313 (1884).

7) Martin, Brit. med. Journ. 1885. S. 50. Journ. of. Physiol. VI. 336.

Harlay[1]) untersuchte die Einwirkung von Wärme auf Papaïn. Er fand, dass es trockenes Erhitzen auf 100° verträgt; in Lösung wird es bei 75° geschwächt und bei 82,5° zerstört.

Ueber die Wirkung des Papayasaftes sind zuerst von Roy[2]) Versuche angestellt worden, der zeigte, dass er Eiweissstoffe löst, ohne jedoch diesen Process als Verdauung zu bezeichnen; später hat dann Albrecht[3]) ebenfalls mit dem Saft Versuche gemacht.

Wurtz[4]) schrieb ihm fibrinverdauende Kraft in neutraler Lösung zu, indem es sich erst fest an das Fibrin bindet, dann erst es löst; es entstehen dabei Peptone, Leucin, kein Tyrosin. Rossbach[5]) gab irrthümlicherweise an, dass Papaïn in der Kälte ebenso energisch wirke, als in der Wärme, was Martin widerlegt. Er bestätigt die Angabe von Brunton und Wyatt[6]) gegen Albrecht und Rossbach, dass saure Reaction die Wirkung aufhebt. Martin[7]) verwendete ausser Fibrin getrocknetes coagulirtes Eieralbumin.

Das Ferment reagirt auch in schwach alkalischer Lösung, am besten in $^1/_4$ $^0/_0$iger Sodalösung (Martin l. c.).

Weeg[8]) findet die beste Wirkung in neutraler Lösung, HCl hindert, ebenso Alkalescenz; dagegen finden Hirschler,[9]) Sittmann[10]) Beförderung durch schwache Säuren, Hinderung durch Alkali, Chittenden[11]) gleiche Resultate in neutraler, schwach alkalischer und schwach saurer Lösung. Hirsch[12]) hingegen findet wieder günstige Wirkung eines sogar bis 0,2 $^0/_0$igen HCl-Gehaltes. In einer solchen Lösung wurde Fibrin eben so schnell wie von Pepsinsalzsäure gelöst. 1 proc. Sodalösung hebt die Fermentation auf.

Bei der Verdauung durch Papaïn entsteht zunächst ein Globulin, das dann peptonisirt wird. Die Peptone liessen sich im Dialysat nachweisen, neben Leucin; Tyrosin wird nur in geringer Menge gebildet.

---

1) Harlay, Journ. Pharm. Chim. (6.) XI. 268. Chem. Centralbl. 1900. I. 918.

2) Roy, Glasgow Méd. Journ. 1874. cit. n. Martin, l. c.

3) Albrecht, Corresp.-Bl. f. Schweizer Aerzte. X. S. 680. 712 (1880). Schmidt's Jahrb. 190. 4.

4) Wurtz, C. R. l. c.; ferner C. R. 91. S. 787.

5) Rossbach, Z. f. klin. Med. 1883. 527.

6) Brunton und Wyatt, Practitioner 1880. S. 301. cit. n. Martin.

7) Martin, Journ. of Phys. V. S. 220.

8) Weeg, Ueber Papaïn. Diss. Bonn 1885.

9) Hirschler, Ungar. Arch. f. Med. I. 341. Maly's Jb. 1892. 19.

10) Sittmann, Münch. med. Woch. 1893. 548.

11) Chittenden, Transact. of the Connectic. Acad. of Arts and Sciences. 1892. Bd. 9. cit. in Americ. Journ. of Med. Science. 1893. S. 452.

12) Hirsch, Therap. Monatsh. 1894. S. 609.

Blausäure hindert die Fermentation, Thymol sehr wenig.

Später hat Martin[1]) auch die Proteïne des Saftes selbst der Verdauung unterworfen, was auch Wurtz schon gethan hatte. Globulin und Albumin gehen erst in β-Phytalbumose, dann in peptonartige Körper über, ebenso die α-Phytalbumose. Dann entstehen Leucin und Tyrosin.

Chittenden[2]) hat die Verdauungsproducte dann quantitativ auf Deuteroalbumose und Peptone untersucht. Er findet bei reichlicherer Papayamenge ein relatives Anwachsen der Peptone.

Lebendes Protoplasma wird von Papaïn nicht angegriffen, es ist völlig ungiftig(?), bei subcutaner Injection entstehen leichte locale Erscheinungen (Rossbach,)[3]) dagegen soll es Eingeweidewürmer tödten (Tussac).[4])

Therapeutisch hat man das Papaïn und ähnliche Präparate aus den Früchten der Carica papaya (z. B. Papaïn Reuss) einerseits zur Lösung diphtheritischer Membranen,[5]) andererseits als Hilfsmittel bei der Verdauung, namentlich bei Salzsäuremangel im Magen, verwendet, doch mit zweifelhaften Erfolgen, besonders Sittmann,[6]) Hirsch,[7]) Osswald,[8]) Grote.[9])

Auch zur künstlichen Peptonisirung des Fleisches wird Papaya im Grossen verwendet, so bei dem Antweiler'schen[10]) und Cibil'schen[11]) Fleischpepton.

Ein dem Papaïn ähnliches Ferment haben Wittmack,[12]) Bouchut[13]) aus dem Saft des Feigenbaumes Ficus Carica und macrocarpa und ein allerdings mehr pepsinähnliches proteolytisches Ferment Chittenden[14]) aus dem Ananassaft dargestellt, das er Bromelin nennt. Hansen[15]) hat das pepsinähnliche Ferment von Ficus Carica genauer untersucht und Hemi- und Antialbumose dargestellt. In anderen Milchsäften, z. B. von Ficus elastica, Chelidonium, Euphorbiaceen fand Hansen keine proteolytischen Enzyme. Green[16]) fand ein solches in den Früchten von Cucumis utilissi-

1) Martin, Journ. of physiol. VI. S. 355.
2) Chittenden, Americ. Journ. of physiol. I. S. 634 (1898).
3) Rossbach, Z. f. klin. Med. 1883. 527.
4) Tussac, Flore médic. des Antilles. Bd. III. Citirt bei Wittmack, l. c.
5) Rossbach, Berl. klin. Woch. 1881. S. 133.
6) Sittmann, Münch. med. Woch. 1893. 548.
7) Hirsch, Therap. Monatsh. 1894. S. 609.
8) Osswald, Münch. med. Woch. 1894. S. 665.
9) Grote, Deutsche med. Woch. 1896. S. 474.
10) J. Munk, Ther. Monatsh. 1888. S. 276.
11) Rosenheim, Krankh. d. Speiseröhre und d. Magens. 1891. S. 134.
12) Wittmack, Vers. d. Naturf. u. Aerzte. 1879. S. 222.
13) Bouchut, Comptes rendus. 91. S. 67 (1880).
14) Chittenden, Journal of Physiol. XV. 249.
15) Hansen, Arb. a. d. botan. Inst. Würzburg. III. S. 268.
16) Green, Ann. of Botany. VI. (1892). 195.

mus, sowohl im Saft als im Pericarp. Es wirkt am besten in schwach alkalischen Medien, ist also trypsinähnlich.

Noch mehr dem thierischen Stoffwechsel nähern sich die sogen. **fleischfressenden Pflanzen.**[1])

Sie haben die Fähigkeit, thierisches Eiweiss für sich zu verwenden, und so stand es zu erwarten, dass man aus ihnen proteolytische Enzyme gewinnen könne.

Die erste Mittheilung über die eiweissverdauende Kraft der Drüsen von Nepenthes machte Hooker,[2]) der aber geneigt war, weniger dem Secret als anderen Factoren, hauptsächlich Bacterien die Wirksamkeit zu vindiciren. Ähnlich Darwin[3]) bei Dionaea.

Mit der Drosera rotundifolia experimentirten zuerst Rees und Will.[4]) Sie stellten Glycerinextracte aus Blättern her und erhielten eine schwach saure Flüssigkeit, die peptonisirend wirkte, namentlich bei Zusatz von verdünnter HCl. Aehnliche Resultate erzielte v. Gorup-Besanez[5]) bei Nepenthes und fast gleichzeitig Lawson Tait[6]) und Vines[7]) bei Nepenthes hybridus und gracilis, ersterer an den Blättern und dem Safte selbst, letzterer auch in Glycerinextracten. v. Gorup-Besanez fand bei Reizung der Drüsen einen sauren, stark digestiven Saft, bei Ruhe einen neutralen, wenig activen, der aber durch Zusatz von verdünnter HCl wirksam wurde. Er wies in der Flüssigkeit Peptone nach. Auch Hansen[8]) fand bei Nepenthes proteolytisches Enzym. Vines hat auch die Existenz eines Zymogens sehr wahrscheinlich gemacht. Bei Sarracenia fand er kein Ferment.

Ganz analoge Resultate fanden sich auch bei anderen Insectivoren. Canby[9]) beobachtete Lösung von Fleisch bei Dionaea muscipula, die sogar die Auflösung eines ziemlich grossen Myriapoden zu Stande brachte.

Cohn[10]) machte ähnliche Beobachtungen an Aldrovandia vesi-

---

1) s. darüber die zusammenfassende Arbeit von Pfeffer, Landwirthsch. Jahrbücher. VI. (1877). S. 969.

2) Hooker, Adress. British Association ref. Nature. X. 366.

3) Darwin, Insectivorous Plants. II. Aufl. 1875.

4) Rees und Will, Botanische Zeitg. 29. X. 1875. s. a. Sitzb. d. Erlanger Phys. med. Soc. 1875. Bd. VIII. S. 13.

5) v. Gorup-Besanez, B. d. d. chem. Ges. IX. 673.

6) Lawson Tait, Nature. (1875). XII. S. 251.

7) Vines, Journal of anat. and physiol. XI. 124.

8) Hansen, Arb. a. d. botan. Inst. Würzburg. III. 265.

9) Canby, Oesterr. botan. Ztschr. XIX. S. 77. XXV. 287.

10) Cohn, Beiträge z. Biol. d. Pflanzen. I. 3. S. 71 (1875).

culosa und Utricularia vulgaris, Canby[1]) an Darlingtonia Californica.

Besonders eingehend in zahlreichen Abhandlungen beschäftigte sich mit dieser Frage Morren,[2]) der an Drosera und Pinguicula arbeitete. Er war anfangs nicht von der Identität dieses Vorganges mit Verdauungserscheinungen überzeugt, hat sich aber später zu dieser Anschauung bekehrt und ist dann sehr energisch dafür eingetreten.

Angegriffen wurde die Lehre von den Pepsinen der Insectivoren von Dubois[3]) für Nepenthes, der bei Luftabschluss keine Wirkung erzielen konnte, sondern nur bei Zulassung von Bacterien (allerdings, da der Extract nur „légèrement acide" war, und er keine weitere Salzsäure zusetzte, nicht sehr verwunderlich). Dann von Tischutkin,[4]) der in geschlossene Schläuche Eiweisswürfel einführte und bei der spontanen Oeffnung keine Wirkung wahrnehmen konnte, vielmehr die Wirkung ausschliesslich auf Bacterien zurückführte. Dagegen wenden sich wieder Goebel[5]) und Vines,[6]) der in seinen neuen Versuchen durch einige Cubikcentimeter einer 2 %igen Blausäure die organisirten Fermente beseitigte und unter diesen Bedingungen seine früheren Resultate bestätigen konnte. Im Verdauungsproduct fand sich Leucin, aber keine echten Peptone. Es scheint also speciell das Nepenthesenzym ähnlich dem Papaïn eine Mittelstellung zwischen Pepsin und Trypsin einzunehmen. Es wirkt mehr dem Trypsin ähnlich, aber in saurer Lösung und ist, auch gegen Alkalien (Vines l. c.) sehr beständig.

Proteolytische Fermente in Kryptogamen: Auch in Pilzen kommen proteolytische Fermente vor. Es fanden sie Poehl[7]) in Penicillium, Bourquelot und Herissey[8]) in Aspergillus niger. In anderen Pilzen fanden sie ein Ferment, das zwar kein Fibrin oder Albumin löst, aber Caseïn.[9]) Auch Malfitano[10]) fand in Aspergillus ein isolirbares Enzym, das in saurer Lösung wirksam war.

---

1) Canby, Oesterr. botan. Ztg. XXV. S. 287.

2) Morren u. A., Bull. de l'acad. de scienc. d. Belgique. IIe Sér. **39.** 870. **40.** 6. 525. 1040. **42.** 1019.

3) Dubois, Compt. rend. **111** (1890). S. 315.

4) Tischutkin, ref. Bot. Centralbl. 50 (1892). S. 304.

5) Goebel, Pflanzenbiol. Schilderung. II. (1893). S. 173.

6) Vines, Annals of botany. XI. S. 563 (1897). XII. 545 (1898).

7) Poehl, Biolog. Centralbl. III. 252.

8) Bourquelot, Bull. de la soc. de mycolog. d. France. IX. 230. S. A.

9) Bourquelot und Herissey, C. R. **127.** 666. Bull. soc. mycol. XV. (1899). S. A.

10) Malfitano, Annal. Inst. Pasteur. XIII. 60 (1900).

Ein tryptisches Ferment fand in Pilzen (Agaricus etc.) Hjort,[1]) das am besten in neutraler Lösung wirkt und Leucin, Tyrosin und Tryptophan erzeugt.

In Fuligo septica fand Krukenberg[2]) ein proteolytisches Ferment.

Auch aus Bacterien sind vielfach proteolytische Fermente isolirt worden,[3]) die zum Theil analog den Toxinen der pathogenen Mikroorganismen direct in die Culturflüssigkeit übergehen, und durch Filtration mittelst Porzellanfilter isolirt werden können, theils fester gebunden sind und z. B. durch Tötung der Bacterien beim Erhitzen erhalten werden können, analog der Hefeinvertase, so aus Anthrax (Hankin),[4]) Vibrio Koch (Cholera) (Bitter)[5]) und anderen Vibrionen (Macfadyen),[6]) Fäulnissbacterien (Hüfner[7]) u. A.). Brunton und Macfadyen[8]) haben aus den gelatineverflüssigenden Bacterien proteolytische Enzyme isoliren können, die durch Säuren in ihrer Wirkung gehindert werden. Wood[9]) hat aus verschiedenen Bacterien etwas differente Enzyme erhalten, besonders im Verhalten gegen Säuren. Vignal[3]) hat aus Bacillus mesentericus vulgatus die verschiedenartigsten Enzyme isoliren können.

Bei Sauerstoffabschluss sollen nach Liborius[10]) keine Enzyme abgesondert werden. Nach Fermi,[11]) der die tryptischen Bacterienfermente gründlich untersucht hat, wirken sie nur eiweisslösend, nicht peptonisirend. Er erhielt sie auch auf eiweissfreien Nährböden. Nach seinen Angaben verhalten sich die Fermente der einzelnen Bacterien in fast jeder Beziehung höchst verschieden. Die der Vibrionen sind am widerstandsfähigsten, z. B. auch gegen höhere Temperaturen. Die Enzyme sind meist in ihrer Wirksamkeit beständiger gegen Gifte; eine Ausnahme macht nach Wood[9]) der Choleravibrio, dessen Enzym durch Carbolsäure schneller vernichtet wird, als der Vibrio selbst.

Sind die eben beschriebenen Pflanzenfermente Secretionsproducte der Zellen und ohne tiefgreifende Einwirkungen aus ihnen zu gewinnen, so giebt es auch proteolytische Fermente der niederen Pflanzen, die

---

1) Hjort, Centralbl. f. Physiol. X. 192 (1896).
2) Krukenberg, Unters. phys. Inst. Heidelb. II. 273.
3) Die Litteratur bei Flügge, Microorganismen. 1896. S. 207.
4) cit. n. Green, Ann. of bot. VII. S. 118.
5) Bitter, Arch. f. Hygiene. V. 245 (1886).
6) Macfadyen, Journ. of anat. and physiol. 26. 409 (1892).
7) Hüfner, Journ. pr. Ch. N. F. V. 372 (1872).
8) Brunton und Macfadyen, Proc. Roy. Soc. 46. 542 (1890).
9) Wood, Laborat. reports Roy. Coll. Phys. Edinburgh. II. cit. n. Green, l. c.
10) Liborius, Zeitschr. f. Hyg. I. 115.
11) Fermi, Arch. f. Hyg. XIV. 1. Fermi und Pampersi, Maly's Jb. 1897. 827.

analog der Buchner'schen Zymase (s. d.) im Allgemeinen nur im Verbande der lebenden Zelle wirksam sind und nur durch dasselbe eingreifende Verfahren aus ihnen isolirt werden können.

Salkowski[1]) hat zuerst angegeben, dass Hefe, vor Fäulniss geschützt, sich selbst verdaut.

Hahn[2]) hat dann die Beobachtung gemacht, dass Hefepresssaft, mit Chloroform versetzt, die Fähigkeit hat, Carbolgelatine zu lösen. Er hat dann in Gemeinschaft mit Geret[3]) diese Frage weiter studirt und gefunden, dass die Presssäfte verschiedener Hefen proteolytische Fermente enthalten. Es bildet sich dabei sehr schnell Leucin und Tyrosin, sowie unter Abspaltung von Phosphorsäure Nucleïnbasen, dagegen keine echten Peptone. Zugesetzte Albumosen werden schnell weiter zerlegt.

Blausäure, die in ganz geringen Mengen die Thätigkeit organisirter Fermente aufhebt, war ohne wesentlichen Einfluss.

Ganz ähnliche Enzyme enthalten nach Geret und Hahn[4]) die Presssäfte von Tuberkelbacillen, Typhusbacillen und Sarcina rosea, sowie von Lupinenkeimlingen.

Ein ähnliches proteolytisches Ferment erhielten Emmerich und Löw[5]) aus Pyocyaneuskulturen, die, sich selbst überlassen, allmählich absterben und sich auflösen. Sie nannten es Pyocyanase. Es zeigt die Eigenschaften eines Enzyms und löst Fibrin und Hühnereiweiss.

1) Salkowski, Zeitsch. f. klin. Med. XVII. Supplem. Z. phys. Ch. XIII. 506.
2) Hahn, Ber. d. d. chem. Ges. 31. S. 200 (1898).
3) Geret und Hahn, ib. 31. 202. 2335.
4) Geret und Hahn, ibid. 31. 2335.
5) Emmerich und Löw, Zeitsch. f. Hygiene. 1899. 1.

Dreizehntes Capitel.

Das Labferment (Chymosin).

Dass die Schleimhaut des vierten oder wahren Magens des Kalbes die Eigenschaft hat, Milch zur Gerinnung zu bringen, ist eine längst bekannte[1]) Thatsache, deren praktische Consequenzen für die Käsebereitung man schon im Alterthum gezogen hat. Berzelius zeigte zuerst die Unabhängigkeit dieses Vorgangs von der Milchsäurebildung, auf deren Einfluss man zuerst die Gerinnung zurückgeführt hatte. Liebig nahm an, dass die Milchsäurebildung das Alkali binde und dass dadurch das Caseïn ausfällt; doch wurde diese Ansicht von Selmi[2]) widerlegt, der zeigte, dass Milch auch in alkalischer Lösung gerinnen kann. Die wissenschaftliche Entdeckung der Labwirkung erfolgte durch Heintz,[3]) der im Gegensatz zu der älteren Anschauung, die die Labgerinnung als eine Wirkung des Pepsins oder der Magensäure auffasste oder im Zusammenhang mit der Milchsäurebildung betrachtete (Soxhlet),[4]) nachwies, dass die Magenschleimhaut sowohl in saurer als in alkalischer Lösung die Milch zum Gerinnen bringt.

Hammarstén[5]) und A. Schmidt[6]) wiesen dann nach, dass diese Gerinnung durch ein Ferment ausgelöst wird, dem man den Namen Labferment oder Chymosin (engl. rennet) gegeben hat. Er zeigte die Unterschiede zwischen dieser echten Labgerinnung und der Säuregerinnung und wies durch seine Versuche mit milchzuckerfreien Caseïnlösungen bindend nach, dass die Milchsäurebildung mit der Labgerinnung

1) Eine sehr interessante historische Uebersicht von den ältesten Zeiten an giebt Peters in seiner Diss. über das Labferment. Rostock 1894.

2) Selmi, J. pharm. et. chim. (3.) IX. 265 (1846).

3) Heintz, J. f. pr. Ch. N. F. VI. 374 (1872).

4) Soxhlet, J. f. pr. Ch. N. F. VI. 1.

5) Hammarstén, Autoreferate Maly's Jb. 1872. 118. ibid. 1874. 135. 1877. 158.

6) A. Schmidt, Beiträge z. Kenntn. d. Milch. Dorpat 1871.

gar nichts zu thun hat. Dadurch, dass die vom Käse abgegossene Molke wiederum die Fähigkeit hat, Gerinnung auszulösen, wurde die Gerinnung als eine Fermentwirkung erkannt.

Vorkommen des Labfermentes: Der normale Bildungsort des Labfermentes ist vor Allem die Schleimhaut des Magens, die es entweder in freiem Zustande (bei Kalb und Schaf), häufiger aber als inactives Zymogen enthält, das durch Säuren in die active Form übergeht. Als Zymogen fand es Hammarstén im Magen aller daraufhin untersuchten Thiere.

Auch bei Säuglingen fehlt es nie (Szydlawski).[1])

Nach einer vor Kurzem erschienenen Arbeit von Bang soll aber das Labferment des Menschen und des Schweines sich so wesentlich von dem gewöhnlichen unterscheiden, dass er es als ein eigenes Ferment ansieht und ihm den Namen Parachymosin giebt (s. u.). Lab wird im Fundus reichlicher gebildet als im Pylorus; wahrscheinlich sind die Hauptzellen und die in ihnen enthaltenen Granula der Productionsort ebenso des Labzymogens wie des Pepsinogens (Grützner).[2]) Freies Enzym ist sehr wenig in der Magenschleimheit vorgebildet. Im Hunger ist es wie die anderen Fermente reichlicher vorhanden (Lörcher l. c.). Es fehlt bei schweren Erkrankungen des Magens, z. B. Gastritis und Carcinom (Boas,[3]) Johnson,[4]) Johannesson),[5]) doch findet es sich auch ausserhalb des Magens z. B. im Dünndarm (Baginski);[6]) im Harn fand es u. A. Holovtschiner,[7]) andere nicht, Boas[8]) sehr unregelmässig. Edmunds[9]) fand Labferment in den verschiedensten Organen, auch im getrockneten Hoden.

Auch der Pancreassaft zeigt einen Einfluss auf die Milch, doch anderer Art (s. b. Trypsin).

Darstellung des Fermentes: Um das Lab aus der Magenschleimhaut zu gewinnen, behandelt man sie zunächst 24 Stunden bei Zimmertemperatur mit 0,1—0,2 %iger Salzsäure, um das Zymogen in das Enzym überzuführen. Wenn man diesen Extract filtrirt und

1) Szydlawski, Prag. medic. Woch. 1892. 365. vgl. ind. Schumburg, Virch. A. 97. 260 (1884).
2) Grützner, Pflüg. A. XVI. 119.
3) Boas, C. med. Wiss. 1887. 417.
4) Johnson, Z. klin. Med. XIV. 240 (1888).
5) Johannesson, Z. klin. Med. XVII. 204 (1890).
6) Baginski, Z. f. phys. Ch. VII. 209 (1882).
7) Holovtschiner, Virch. A. 104. 42 (1886).
8) Boas, Z. klin. Med. XIV. 249 (1888).
9) Edmunds, Journal of Physiol. XIX. 466 (1895).

sorgfältig neutralisirt, so kann man damit die gerinnende Kraft prüfen.

An Stelle dieser Methode kann auch ein Glycerinextract (Hammarstén) oder wässerige gesättigte Salicylsäurelösung verwendet werden (Erlenmeyer),[1]) ferner Kochsalzlösung etc.

Durch Fällung dieser Extracte mit Alkohol erhält man ein unreines, aber nach Wiederlösung in Wasser wirksames Präcipitat.

Lörcher[2]) benutzt Glycerin- oder besser Säureextracte der getrockneten Schleimhaut. Die Säureextracte sind wirksamer, Glycerinextracte haltbarer. Zur Trennung vom Pepsin benutzte Hammarstén folgendes Verfahren:

Das salzsaure Infus des Magens wurde durch Schütteln mit Magnesiumcarbonat neutralisirt; dann durch wenig Bleiacetat das Pepsin ausgefällt. Das Filtrat, das auf Fibrin nicht mehr wirkte, wurde von Neuem mit Bleiacetat und Ammoniak gefällt, der das Lab enthaltende Niederschlag mit sehr verdünnter Schwefelsäure zerlegt, und aus dem Filtrat mit Hilfe von Cholesterin ähnlich dem Brücke'schen Verfahren für das Pepsin das Ferment isolirt.

Eigenschaften des Labferments: Es zeigt von allen üblichen Eiweissreactionen nur die Fällbarkeit mit Bleiacetat. Doch soll es auch nach Mayer[3]) durch andere Schwermetallsalze, jedoch nicht immer quantitativ, gefällt werden.

Es diffundirt nicht durch thierische Membranen, schwer durch porösen Thon.

Zerstört wird es:

Durch Alkohol langsam, um so schneller je mehr Alkohol die Lösung enthält.

Durch Trypsin und Fäulnissbacterien (Baginski).[4])

Durch Galle und choleïnsaures Natrium (Boas l. c.).

Magensaft zerstört nach Hammarstén das Kälberlab bei 24 bis 48 stündigem Digeriren, dagegen bleibt nach Thunberg das im käuflichen Pepsin enthaltene Lab mehrere Tage unverändert und wirksam, wenn man es nachher mit Kalk neutralisirt, nicht aber mit Alkalien. Nach Bang[5]) liegt hier aber ein anderes Ferment, das Parachymosin vor (s. u.). Gegen hohe Temperaturen verhält es sich je nach der Reaction verschieden.

---

1) Erlenmeyer, Sitzb. Münch. Acad. 1875. 82.
2) Lörcher, Pflüg. A. 69. 141 (1898).
3) Mayer, Landw. Versuchsst. 27. 247 (1881).
4) Baginski, Z. f. physiol. Ch. VII. 209 (1882).
5) Bang, Pflüg. Arch. 79. 425 (1900).

Während es in neutraler Lösung beständiger ist, bis gegen 70°, wird es in schwach saurer Lösung bei 63° sofort und bei 40° in circa 40 Stunden zerstört, besonders schnell durch destillirtes Wasser (Camus und Gley);[1]) durch letztere Eigenthümlichkeit kann man labhaltige Pepsinlösungen davon befreien, da das Pepsin gegen diese Einwirkung unempfindlich ist. Trockenes Erhitzen verträgt es gut, auch in Glycerin ist es beständiger (Lörcher l. c. S. 175). Andererseits bleibt es auch bei 0° ungeschädigt, besonders in stark milchsaurer Lösung (Camus und Gley),[1]) wirkt aber erst von 10° an (Lörcher).

Gegen Alkalien und Alkalicarbonat ist es sehr empfindlich; es wird schon durch 0,025 %ige Natronlauge und 1 Proc. Sodalösung zerstört (Langley).[2]) Auch Licht schädigt das Ferment (Mayer).

Das Labzymogen: Die erste Annahme eines „Prolabs" rührt von Hammarstén[3]) her. Grützner[4]) bestätigte die Existenz dieses Zymogens.

Es ist das eigentliche Secret der Fundusdrüsen, ebenso wie das Pepsinogen und geht erst durch die Magensäure resp. bei der künstlichen Extraction mit Säuren in das Ferment über. Als solche kann man fast alle Säuren verwenden. Am besten ist Salzsäure und Schwefelsäure, am schwächsten Essigsäure (Lörcher);[5]) im Magen kann bei Abwesenheit von Salzsäure auch Milchsäure als zymoplastisches Agens dienen (Johannesson,[6]) und auch andere organische Säuren (Boas).[7]) Es ist sowohl gegen Alkalien wie gegen Erhitzen beständiger als das Ferment selbst, wie dies ja auch für das Pepsinogen gilt (Boas,[7]) Klemperer).[8])

Calciumchlorid soll nach Boas dem Prolab die Fähigkeit der Gerinnung der Milch verleihen; dies wird indessen von Lörcher bestritten. Die Bildung des Fermentes aus dem Zymogen ist durchaus von der Production von freier Säure abhängig, so dass das freie Ferment stets bei Abwesenheit von solcher im Magensaft fehlt, während das Zymogen vorhanden ist.

Bestimmung der Wirksamkeit: Meist bestimmt man die Wirksamkeit des Fermentes, resp. die vorhandene wirksame Menge durch

1) Camus und Gley, C. R. 125. 256.
2) Langley, Journal of Physiol. III. 259 (1883).
3) Hammarstén, s. Lehrb. d. phys. Ch. 1896. S. 154.
4) Grützner, Pflüg. A. XVI. S. 118 (1878).
5) Lörcher, Pflüg. A. 69. 183 (1898).
6) Johannesson, Z. f. klin. Med. XVII. 304 (1890).
7) Boas, Z. f. klin. Med. XIV. 256 (1888).
8) Klemperer, Z. f. klin. Med. XIV. 282 (1888).

die Zeit, die eine gegebene Menge braucht, um eine gegebene Quantität Milch zur Gerinnung zu bringen, da ja beim Labferment die Zeit der Wirkung fast genau umgekehrt proportional der Fermentmenge ist.

Morgenroth [1]) hat dafür die geringste Menge einer bestimmten Fermentlösung bestimmt, welche unter gleichen Bedingungen die gleiche Milchquantität coagulirt. Er hielt die Ferment-Milch-Mischung über Nacht bei 0°—8°; dabei erfolgt keine Gerinnung. Dann erwärmte er schnell auf 32° und setzte nun noch Fermentlösung zu, bis Gerinnung eintrat. Dadurch konnte er das nöthige Minimum finden und dies als Einheit nehmen.

Wirkung des Labfermentes: Die äusserlich erkennbare Wirkung des Enzymes besteht darin, bei Gegenwart von Kalksalzen die Milch zum Gerinnen zu bringen. Hierbei tritt nach Mayer (l. c.) eine positive Wärmetönung ein.

Das Caseïn der Milch wird dabei nach Hammarstén gespalten in zwei andere Eiweisskörper, eine in der Molke zurückbleibende phosphorfreie Albumose und das phosphorhaltige Paracaseïn,[2]) das den Käse darstellt. Dieselbe Spaltung erzielte Hammarstén durch Erhitzen von Caseïnlösung im Rohr auf 130°. Die Albumose wurde von Köster[3]) näher untersucht. Peters behauptet, dass Lab auch andere Eiweisskörper, z. B. Alkalialbuminat aus Hühnereiweiss coagulirt, doch wird dies u. A. von Edmunds[4]) bestritten, der keine Gerinnung, sondern nur eine theilweise Ausscheidung unter dem Einfluss der Kalksalze sah. Caseïn und Paracaseïn unterscheiden sich folgendermassen: das Caseïn wird aus der Milch durch Kochsalz, Magnesiumsulfat etc., sowie durch schwache Säuren unverändert gefällt und ist wieder löslich. Sobald es aber mit Lab gefällt wird, verändert es seine Eigenschaften. Es wird unlöslich in Wasser, die Lösung des Paracaseïns in Kalkwasser wird durch Phosphorsäure gefällt, die des Caseïns nicht. Es ist in Ammoniumoxalat unverändert löslich (Edmunds).[4]) Hammarstén reinigte das Paracaseïn durch Auflösen in sehr schwachem Ammoniak und Fällen mit Essigsäure. Seine Eigenschaften zeigen je nach der Bereitung kleine Differenzen. Vor allem aber wird diese Paracaseïnlösung durch Lab nicht wieder gefällt.

1) Morgenroth, C. f. Bact. **26**. 349 (1899).

2) Dies ist die Terminologie nach Hammarstén, der man wohl am besten folgt. Andere, z. B. Peters (Untersuch. üb. das Lab. Diss. Rostock 1894), bezeichnen Hammarstén's Caseïn als Caseïnogen, das Paracaseïn als Caseïn.

3) Köster, Maly's Jb. XI. 14 (1881).

4) Edmunds, Journ. of physiol. XIX. 466 (1895).

Dieser Angabe ist von Peters (l. c.) widersprochen worden, der behauptete, dass die Lösung von Paracaseïn in ganz schwach kalkhaltigem Wasser nach Belieben immer wieder mit Lab zur Gerinnung gebracht werden könne.

Hammarstén[1]) widerlegte in einer sehr sorgfältigen Arbeit diese Behauptung und führte sie darauf zurück, dass Peters mit stark salzhaltigem Labextract gearbeitet hatte, wobei das Paracaseïn durch Kochsalz gefällt, aber nicht durch Lab coagulirt wurde. Auch lösliche Kalksalze geben mit Paracaseïn eine Verbindung, die in der Hitze schwerer löslich ist als in der Kälte (Ringer).[2]) Das Verhalten von Paracaseïnkalklösungen gegen Kochsalz ist also ebenfalls ein Unterscheidungsmerkmal von Caseïn, da dieses von ebenso verdünntem Kochsalz nicht gefällt wird. Beim Erwärmen fällt häufig auch spontan etwas Paracaseïn aus, das durch Erwärmen verändert zu werden scheint.

Die Gerinnung der Milch, das Ausfallen des Paracaseïns ist nur eine secundäre Erscheinung.[3])

Wenn man nämlich eine Lösung von Caseïn in Kalkwasser unter Vermeidung eines Ueberschusses von Kalk darstellt (Verreiben von Caseïn in Wasser mit reinem Calciumcarbonat),[4]) so hat man eine annähernd neutrale Lösung von Caseïnkalk. Diese gerinnt mit reinem Labferment nicht. Sobald man jetzt indessen ein lösliches Kalksalz zusetzt, so tritt Gerinnung ein: das bereits gebildete, aber in Lösung befindliche Paracaseïn fällt aus. Dasselbe, jedoch nur bei grösserer Concentration der Lösung und oft erst bei Körpertemperatur und höher, erreicht man mit kalkfreiem Kochsalz (Hammarstén). Die Rolle der löslichen Kalksalze ist also nicht für die Bildung des Paracaseïns nöthig, sondern sie oder andere Salze nur für die Fällung des bereits entstandenen, und damit müssen sie von der wichtigen Position bei der Labgerinnung zurücktreten, die ihnen seit Söldner[5]) zugeschrieben wurde; dieser hatte die Wichtigkeit der löslichen Salze hervorgehoben, dem vom Caseïn in Lösung gehaltenen

---

1) Hammarstén, Z. phys. Ch. 22. 130 (1896/97).

2) Ringer, Journ. of physiology. XI. 464.

3) s. d. Arthus und Pagès, Arch. d. phys. (5) II. 330. 540 (1890).

4) Zuerst hatte Hammarstén diese „künstliche Milch" durch Auflösen von Caseïn und Neutralisiren mit Phosphorsäure dargestellt. Diese Lösung war gerinnungsfähig, wobei H. dem Calciumphosphat eine grosse Rolle zuschrieb. Lundberg (Maly's Jb. 1876. 11) zeigte, dass Oxalsäure, zu der Caseïnlösung zugesetzt, die Gerinnung verhindert, ebenso Schwefelsäure in Barytlösungen des Caseïns.

5) Söldner, Landw. Versuchst. 35. 351.

Calciumphosphat dagegen keine Bedeutung zugeschrieben, im Gegensatz zu Hammarstén's älteren Ansichten, nach denen nur das Calciumphosphat wirksam sei.

Arthus und Pagès[1]) hatten den Käse als Kalkverbindung des Caseogens angesehen, das seinerseits ein Spaltproduct des Caseïns ist. Zwar konnte Hammarstén aus reinen Paracaseïnlösungen durch Kochsalz keine ganz typische Gerinnung, sondern nur eine Fällung erzielen, wohl aber gelang ihm dies auch bei Abwesenheit von fällbaren löslichen Kalksalzen in dialysirter Milch.

Die Kalksalze können nach Arthus[1]) und Peters[2]) auch durch Baryum- oder Strontiumsalze ersetzt werden.

Eugling[3]) schreibt dem Caseïn die Structur eines Tricalciumcaseïnphosphats zu und nimmt an, dass dieses durch Lab in eine lösliche Calciumphosphatverbindung gespalten wird. Dieser Anschauung ist dann von Söldner in der oben citirten Arbeit widersprochen worden, der die Existenz einer solchen Verbindung von Caseïn mit Calciumphosphat leugnet. de Jager[4]) will den löslichen Kalksalzen die Bedeutung beilegen, dass sie andere Verbindungen des Caseïns, z. B. Caseïnnatrium in das zur Gerinnung geeignete Calciumsalz überführen. Courant[5]) nimmt an, dass nur eins der Caseïncalciumphosphatsalze, nämlich das für Phenolphthaleïn saure, für Lacmoid alkalische Dicalciumcaseïnphosphat gerinnbar sei, und dass auch neutrales Calciumtriphosphat, das sich bei Gegenwart löslicher Kalksalze und Phosphorsäure bildet, vorhanden sein muss. Die schlechtere Gerinnbarkeit der Frauenmilch führt er auf die grössere Alkalescenz zurück. Dafür sprechen auch die Beobachtungen von Raudnitz[6]) und Szydlawski,[7]) dass sie nach sehr schwachem Ansäuern auch typisch gerinnt.

Wirksamkeit des Ferments: Hammarstén fand, dass Lab, das Product als reines Ferment betrachtet, die 4—800000fache Menge Caseïn umsetzen könne.

Nach Mayer[8]) ist die Zeit der Labwirkung der Menge umgekehrt proportional. Peters (l. c.) bestätigte dies, fand aber, dass bei einer gewissen Quantität des Fermentes weiterer Zusatz keine Beschleunigung mehr bewirkt, wie das ja auch für die anderen Fermente gilt.

Benjamin[9]) bestätigte, dass die Gerinnung am schnellsten bei schwach saurer, langsamer in neutraler, am schlechtesten in alkalischer Lösung vor sich geht.

---

1) Arthus und Pagès, l. c. S. 540.
2) Peters, l. c. S. 26.
3) Eugling, Landw. Versuchst. **31**. 391 (1885).
4) de Jager, Maly's Jb. 1897. 276.
5) Courant, Reaction der Kuh- und Frauenmilch. Diss. Breslau 1891.
6) Raudnitz, Prag. med. Woch. 1887. 24.
7) Szydlawski, Prag. med. Woch. 1892. 365.
8) A. Mayer, Landw. Versuchst. **27**. 247 (1882).
9) Benjamin, Virch. A. **145**. 30. (—) 1896.

Die Gerinnungsgeschwindigkeit nimmt nach ihm ferner ab: bei mit Chloroform geschüttelter Milch, bei zunehmender Verdünnung, bei Verdünnung mit Chloroformwasser.

Gekochte Milch konnte er im Gegensatz zu Eugling[1]) und Schäffer[2]) ohne Weiteres zum Gerinnen bringen, nach Lörcher[3]) dagegen gerinnt sie langsamer.

Sterilisirte Milch gerann mit Lab nicht.

Am besten wirkte es nach Peters (l. c.) bei Körpertemperatur, nach Mayer[4]) ebenfalls, der bei 25° seine Wirksamkeit schon dreimal schwächer, bei 45° schon aufgehoben fand. Boas[5]) fand das Optimum bei 35—40°; nach Lörcher wirkt es von 10—60°, das des Frosches bei niederer Temperatur.

Von Salzen zeigte namentlich Ammonsulfat Behinderung (Peters), doch auch andere Salze. Carbonate, Sulfate, Nitrate wirken hemmend, Kochsalz bis zu 0,9 Proc. fördernd, dann hemmend (Mayer l. c.). Fluornatrium und Calciumoxalat heben die Wirkung auf. Magnesiumsalze, sowie die des Zinks, Aluminiums, Cadmiums wirken beschleunigend (Lörcher),[6]) besonders aber Chlorcalcium (Ringer,[7]) Boas [l. c.]). Die Säurewirkung hat Pfleiderer[8]) untersucht. Er fand HCl am meisten fördernd, dann Salpetersäure, Milchsäure, Essigsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure. Borsäure ist ohne Einfluss (Mayer).[9])

Blutserum hemmt seine Wirkung (Röden,[10]) Briot).[11])

Peptone verzögern seine Wirksamkeit, besonders in 8 % iger Kochsalzlösung (Gley,[12]) Edmunds,[13]) Locke).[14])

Rhodankalium wirkt hemmend (Wróblewski).[15])

Chloroform wirkt nach Benjamin in kleiner Menge Anfangs fördernd, später aber in grösserer Menge hemmend.

---

1) Eugling, Landw. Versuchst. 31. 391. (—) 1885.
2) Schäffer, Maly's Jb. 1887. 158.
3) Lörcher, Pflüg. A. 69. 141 (1898).
4) A. Mayer, Landw. Versuchst. 27. 247 (1882).
5) Boas, Z. f. klin. Med. XIV. (1888) S. 249. s. a. Johnson, Z. klin. Med. XIV. 243 (1888).
6) Lörcher, l. c.
7) Ringer, J. of physiol. XI. 464.
8) Pfleiderer, Pflüg. A. 66. 605. (—) 1897.
9) Mayer, Enzymologie, l. c. S. 49.
10) Röden, Maly's Jb. XVII. 160 (1887).
11) Briot, C. R. 128. 1366 (1899).
12) Gley, C. R. soc. biol. 48. 591 (1896).
13) Edmunds, Journ. of physiol. XIX. 466 (1896).
14) Locke, Journ. of exp. medec. II. 493 (1897). cit. n. Lörcher.
15) Wróblewski, Chem. B. 28. 1719 (1895).

Freudenreich[1]) untersuchte den Einfluss verschiedener Antiseptica auf Labferment. Er fand, dass seine Wirksamkeit durch Thymol und Formaldehyddampf schwer geschädigt wird; dass hingegen Chloroform und Formalin in 0,5—1 $^0/_0$iger Lösung wenig Einfluss haben. Alkaloïde wirken fördernd (Peters).

Die Zufuhr von Labferment subcutan in kleinen Dosen erzeugt eine Immunität gegen das Ferment, die sich dadurch kundgiebt, dass in Serum und Milch der immunisirten Thiere ein Antilab vorhanden ist, das, der Milch zugesetzt, die Gerinnung verhindert. Morgenroth,[2]) dem wir diese interessante Entdeckung verdanken, hat die hemmende Energie des Labimmunserums quantitativ untersucht und gefunden, dass der Antitoxingehalt der einzelnen Sera stark schwankt. Das stärkste Immunserum, das er bekam, hinderte noch bei einem 2 $^0/_0$igen Zusatz zur Milch die Gerinnung bei einem Fermentzusatz von 1:20000, während bei 1:15000 Gerinnung eintrat. Ohne Antilabzusatz trat die Gerinnung bei einem Zusatz von 1:3 Millionen ein. Es war also bei Antilabzusatz in diesem Falle die 200fache Fermentmenge nöthig, um Gerinnung zu erzeugen. Der theoretischen Bedeutung dieses Befundes sind wir im allgemeinen Theil gerecht geworden. Das Antilab ist sehr unbeständig. Auf einen normalen Gehalt am Antikörper führt Morgenroth auch die oben erwähnte gerinnungshemmende Wirkung verschiedener Blutsera, speciell des Pferdeblutes zurück.

Parachymosin: Wie wir oben kurz angedeutet haben, hat es nach den Befunden von Bang[3]) den Anschein, als ob es zwei milch-coagulirende Fermente im Thierreich gäbe. Bang fand nämlich das Labferment des Menschen und des Schweines sehr verschieden von dem anderer Thiere, speciell dem gewöhnlichen Kalbsmagenferment.

Thunberg hatte schon beiläufig gefunden, dass das im käuflichen Pepsin (aus Schweinemagen) enthaltene Labferment nach mehrtägigem Digeriren in schwach saurer Lösung Milch nicht mehr coagulirt, wenn es mit Alkali, wohl aber, wenn es mit kohlensaurem Kalk neutralisirt wird. Bang fand nun, dass Kälberlab sich gegen beide alkalisirenden Mittel ganz gleichmässig verhält. Er schloss daraus, dass das Pepsinlab anders beschaffen sei als das Kälberlab, und fand das bei näherer Untersuchung bestätigt. Zwischen dem gewöhnlichen Chymosin und dem neuen Parachymosin existiren folgende Unterschiede.

---

1) Freudenreich, C. f. Bact. (II.) IV. 309 (1898).
2) Morgenroth, C. f. Bact. 26. 349 (1899).
3) Bang, Pflüg. A. 79. 425 (1900).

Parachymosin folgt nicht dem für Lab geltenden Gesetz, dass die Reactionszeit proportional der Fermentmenge ist, sondern seine Wirksamkeit nimmt bei zunehmender Verdünnung sehr viel schneller ab und wird bei starker Verdünnung gleich Null.

Chlorcalcium wirkt auf Parachymosin viel energischer fördernd, wie auf Chymosin.

Parachymosin ist beständiger gegen Hitze, bleibt bei bestimmten Bedingungen noch bei 75° einige Zeit wirksam.

Dagegen ist es viel empfindlicher gegen Alkalien als Chymosin.

Man kann in Fermentgemischen entweder durch Erhitzen das Chymosin, oder durch Alkali das Parachymosin zerstören; dieser Umstand besonders führt Bang zur Annahme zweier Fermente.

Pflanzliches Labferment: Die Eigenschaft gewisser Pflanzensäfte, Milch zu coaguliren, ist schon im sechzehnten Jahrhundert bekannt geworden, besonders vom Galium verum, das nach Green's[1]) Angabe heute noch zur Milchgerinnung benutzt wird. Ebenso Pinguicula vulgaris, die nach Linné[2]) in Lappland, nach Pfeffer[2]) in den italienischen Alpen dazu dient, Drosera (Darwin),[3]) Carica papaya (Martin)[4]) etc.

Baginski[5]) fand es in Artischocken, Carica papaya u. A.

Genauer untersucht hat es Lea,[6]) der es aus den Samen von Withania coagulans, einer in Afghanistan und Indien wild wachsenden Solanacee isolirte, und zwar mit Glycerin oder Kochsalzlösung. Es zeigt ähnliche Eigenschaften wie thierisches Lab. Es hat insofern praktisches Interesse, als die Hindus aus religiösen Gründen kein thierisches Lab verwenden.

Green[7]) fand es unter anderem in den keimenden Samen von Ricinus communis und zwar als Zymogen, das durch verdünnte Säuren activirt wurde. Es ist mit dem „Trypsin“ verbunden.

Es reagirt sowohl in saurer als in alkalischer Lösung.

Auch die Frucht der „Naras“-Pflanze (Acanthosicyos horrida) von Südafrika enthält ein Labferment, das sogar in 60 Proc. Alkohol löslich sein soll (Marloth);[8]) ebenso Chittenden's Bromelin.[9])

1) Green, Annals of botany VII. 112.
2) cit. n. Green, l. c.
3) Darwin, Insectivorous Plants. 2. Aufl. 1875. S. 114.
4) Martin, Journ. of physiol. VI. 340.
5) Baginski, Z. phys. Ch. VII. 209 (1882).
6) Lea, Proc. Roy. Soc. 36. 55 (Nov. 1883).
7) Green, Proc. Roy. Soc. 48. 391 (1890).
8) Marloth cit. nach dem Referat von Green, Nature. 1888. 275.
9) Chittenden, Journ. of physiol. XV. 249.

Auch Peters[1]) fand Lab bei zahlreichen Pflanzen: Feigen, Artischocken, Labkraut, Distel, sowie im Papayasaft. Rosetti[2]) hat sich mit dem milchgerinnenden Ferment der Artischocken beschäftigt und dafür den sehr überflüssigen Namen Cynarase vorgeschlagen.

Schliesslich fand man es in Bacterienenzymen,[3]) z. B. von Bacillus Amylobacter (Fitz und Hueppe),[4]) Bacillus mesentericus vulgatus (Vignal),[5]) Bacillus prodigiosus (erst durch halbstündiges Erhitzen auf 100° vernichtet[?]) (Gorini),[6]) in Choleravibrionen (Fokker).[7]) Conn[8]) hat aus verschiedenen Bacterien ein typisches Labferment isolirt, Kalischer[9]) aus Bacterien, die in der Milch vorkommen.

Pectase ist ein Enzym, das die Coagulation pectinhaltiger pflanzlicher Stoffe bedingt.

Es wurde zuerst von Frémy[10]) beobachtet, der eine lösliche Form des Fermentes in Mohrrüben und anderen Rüben, eine unlösliche in sauren Früchten fand. Die Fermentation geht ohne Luftzufuhr, ohne Gasentwicklung vor sich, am besten bei 30°. Bertrand und Mallèvre[11]) haben es dann näher untersucht. Sie fanden, dass ein Gerinnsel von pectinsaurem Kalk eintritt, wenn die Pflanzensäfte stehen blieben. Aufkochen oder Ausfällen des Kalkes hinderte die Coagulation, die aber auch durch Baryum oder Strontiumsalze eingeleitet werden konnte. Die Lösung muss neutral sein, da Säuren das Ferment schnell schädigen.

Sie fanden es weit verbreitet in vielen Pflanzen, auch Kryptogamen. Dagegen konnten sie Frémy's unlösliche Pectase in sauren Früchten nicht finden.

Das Fibrinferment: An dieser Stelle hätte auch die Besprechung jenes hypothetischen Enzymes ihr Recht finden müssen, das nach einer weit verbreiteten Anschauung in dem Vorgang der Blutgerinnung eine gewichtige Rolle spielen soll. Es soll ein ebenfalls, wie das Lab coagulirendes Ferment sein. Man hat angenommen, dass durch

---

1) Peters, Unters. üb. das Lab. Diss. Rostock 1894. S. 45.
2) Rosetti, Chem. Centralbl. 1899. I. 131.
3) Duclaux, C. R. **91.** Hueppe, D. med. Woch. 1884. 777.
4) Fitz und Hueppe bei de Bary, Vorlesg. üb. Bacter. Leipzig 1885.
5) Vignal cit. n. Green, Ann. of bot. VII. S. 120.
6) Gorini, Hyg. Rdsch. 1893. 381.
7) Fokker, D. med. Woch. 1892. 1151.
8) Conn, C. f. Bact. XII. 223.
9) Kalischer, Arch. f. Hyg. **37.** 30. Chem. Centr. 1900. I. 777.
10) Frémy, Journ. d. pharm. **26.** 392.
11) Bertrand und Mallèvre, C. R. **119.** 1012. **120.** 110. **121.** 726.

seine enzymatische Thätigkeit der eine der nativen Eiweisskörper des Blutes, das Fibrinogen, ähnlich wie das Caseïn, gespalten werden soll in Fibrin und ein Globulin. Ausserdem sollen die Kalksalze dabei eine grosse Bedeutung besitzen. Ich habe darauf verzichtet, dieses Ferment hier ausführlicher zu besprechen, und zwar aus verschiedenen Gründen: Zunächst ist es nicht sicher, dass hier wirklich ein „Ferment" in unserem Sinne mitspielt; nach der Ansicht vieler Forscher gehen hier Umsetzungen vor sich, die viel eher synthetischer als fermentativer Natur zu sein scheinen. Und gerade der Vater des Fibrinferments, A. Schmidt, hat in dem wirksamen Princip, das die Vereinigung von fibrinoplastischer und fibrinogener Substanz auslösen soll, sicher nicht ein Ferment in unserem Sinne meinen können; denn eine Vereinigung zweier Stoffe kann nie durch ein Ferment erfolgen. Vor Allem aber wäre es nicht möglich gewesen, das Fibrinferment hier genauer zu schildern, ohne die ganze, so ungeheuer complicirte und trotz heissem Bemühen noch so unklare Frage der Blutgerinnung in allen ihren Verzweigungen aufzurollen, da wir nur in diesem Rahmen das Wesen und die Wirksamkeitsbedingungen des hypothetischen Fermentes genauer hätten studiren können. Und dazu schien doch dies Buch nicht geeignet. Noch erscheint mir das „Fibrinferment" nicht genügend als solches characterisirt, um die ganze Blutgerinnungsfrage als einen hauptsächlich fermentativen Vorgang in einer Arbeit über Fermente abzuhandeln.

Vierzehntes Capitel.

Die sacharificirenden Fermente.

Unter diesem Gruppennamen kann man eine Anzahl von Enzymen zusammenfassen, deren Thätigkeit sich auf die Kohlehydrate erstreckt. Sie besitzen die Fähigkeit, aus den complexeren Stoffen dieser Reihe einfachere herzustellen.

So wird aus der Stärke durch Diastase Maltose und Dextrin, aus der Maltose durch die Maltase Glucose, aus Rohrzucker durch die Invertase Glucose und Fructose etc. Doch ist diese Specificität nur cum grano salis zu verstehen, da die Fermente auch geeignet sind, gewisse andere, ähnliche Stoffe zu spalten. Ihre Wirkung richtet sich auf einzelne Stoffe oder kleine Gruppen nahe verwandter Stoffe.

Das schliessliche Endproduct der Einwirkung dieser verschiedenen Enzyme sind stets einfache Aldosen oder Ketosen, meist ist eins der Spaltungsproducte Glucose.

Der Process selbst ist aufzufassen als eine einfache hydrolytische Spaltung, analog der durch verdünnte Säuren bewirkten.

Die sacharificirenden Fermente sind in dem Thier- und Pflanzenreich in ausgedehntester Weise verbreitet und spielen im Haushalt der Organismen eine sehr wichtige Rolle, indem sie aus den complexeren, für die Organismen nicht verwerthbaren Kohlehydraten die einfachen Zucker herstellen, die dann das Lebewesen zu seinen vitalen Zwecken verwenden kann. So spielen sie für die Kohlehydrate dieselbe Rolle wie die proteolytischen Fermente für die Eiweissstoffe. Zwar vertreten speciell für die Stärkespaltung einige Autoren die Ansicht, dass sie zum Theil wenigstens einer directen Zellthätigkeit zuzuschreiben sei, doch können auch sie nicht die Wichtigkeit der zuckerbildenden Enzyme für die Ernährung der Lebewesen leugnen.

Nomenclatur: Da über die Benennung dieser Gruppe von Fermenten noch keine Einigung erzielt ist, so müssen wir uns zunächst über die hier anzuwendende Nomenclatur verständigen.

Im Allgemeinen halten jetzt die Autoren an dem Princip fest, diese Fermente so zu bezeichnen, dass man ihren Namen mit dem Suffix—ase aus dem Namen des Stoffes bildet, auf den sie speciell hydrolytisch einwirken.

Folgerichtig müsste man demzufolge das stärkespaltende Ferment als Amylase bezeichnen. Indessen hat sich dafür der historische Name Diastase so fest eingebürgert, dass man ihn nicht mehr ausmerzen kann.

Wir wollen also den Namen Diastase als Sammelnamen der stärkespaltenden Enzyme beibehalten.

Beyerinck[1]) will den Begriff Amylase als Sammelnamen aller der Fermente angewendet wissen, die bei der Umwandlung der Stärke bis in ihre letzten Spaltproductc eine Rolle spielen. Diesem Vorschlag muss ich aus zwei Gründen widersprechen. Erstens hat man es hier nicht mit einem einheitlichen Ferment, nicht einmal mit einer einheitlich wirkenden Gruppe von Fermenten zu thun, die man mit dem Namen „Amylase" bezeichnen dürfte, sondern könnte höchstens „Amylasen" sagen, vor Allem aber ist die natürliche Gruppirung nicht die Zusammenfassung der stärkespaltenden Fermente, sondern derjenigen, die aus Polysachariden Zucker bilden; die Inulinase, Cytase etc. gehören eng dazu. Ich habe sie aus diesem Grunde als sacharificirende Fermente bezeichnet, wogegen nur der Einwand zu machen ist, dass auch die glucosidspaltenden Fermente Zucker bilden; doch ist diese Gruppe wieder eine so natürliche Einheit, dass man sie wohl als eigene Klasse von den sacharificirenden Fermenten im engeren Sinne lostrennen darf. Zu den „sacharificirenden Fermenten" gehören dann ausser den stärkespaltenden diejenigen Enzyme, die andere Polysacharide in einfachere Zucker überführen. Dem oben erwähnten Princip gemäss richtig benannt sind die Inulinase, Pectinase, Carubinase, Lactase, Trehalase, Melibiase und Maltase. Dagegen wird das cellulosespaltende Ferment nicht consequenterweise als Cellulase bezeichnet, sondern als Cytase oder als cytohydrolytisches Ferment. Auch für das Enzym des Rohrzuckers ist der historische Name Invertin in seiner modernen Umformung Invertase so eingebürgert, dass weder der von den Franzosen dafür häufig gebrauchte Name Sucrase noch der principiell beste Sacharase sich mit Erfolg dafür substituiren lässt.

Falsch gebildet ist auch der Name Seminase für das Enzym, das das Horneiweiss (Mannan und Galactan) gewisser Samen spaltet, da Seminase genau so richtig für alle anderen Enzyme der Samen angewendet werden kann.

---

1) Beyerinck, C. f. Bact. (II.) I. 221 (1895).

Eine besonders unheilvolle Confusion ist über den Begriff der Maltase dadurch entstanden, dass Wijsman und Beyerinck unter Maltase ein Enzym verstehen, das Stärke, und zwar in Erythrodextrin und Maltose spaltet. Daneben soll noch ein anderes stärkelösendes Enzym existiren, das Achroodextrin (nach Beyerinck neben Maltose) aus Stärke bildet. Wijsman hat es als Dextrinase, Beyerinck als Granulase bezeichnet. Dextrinase ist direct falsch, da es Dextrine nicht spaltet, sondern bildet, Granulase ist ein völlig farbloses Wort. Vorausgesetzt, dass die Annahme zweier Fermente an Stelle der Diastase richtig ist, wäre es wohl am zweckmässigsten, beide als Amylase zu bezeichnen, um damit ihr gemeinsames Substrat: Stärke zu kennzeichnen; und als Erythroamylase und Achrooamylase sie in prägnanter Weise zu unterscheiden. Die eigentliche Maltase wird von Vielen als Glucase bezeichnet; ein ganz verfehlter Terminus, da sie Glucose nicht spaltet, sondern erzeugt; und diese Eigenschaft kann man, selbst abgesehen von dem obengenannten Princip, nicht als Grundlage der Benennung wählen, da Glucose fast von allen sacharificirenden Enzymen gebildet wird.

Untersuchung der Wirksamkeit: Um die Wirksamkeit der sacharificirenden Fermente zu untersuchen, bedient man sich im Wesentlichen dreier Methoden.

Die nächstliegendste ist natürlich die Untersuchung des Fermentgemisches nach beendigter Einwirkung auf chemischem Wege, indem man versucht, die entstandenen Producte als solche oder in characteristischen Verbindungen, besonders als Hydrazone und Osazone, zu identificiren; oder indem man aus Messungen der reducirenden Kraft und der optischen Drehung Rückschlüsse auf Natur und Mengenverhältnisse der Zucker macht. Ein noch einfacheres, aber weniger exactes Verfahren in demselben Sinne ist die Anwendung von Farbenreactionen, um z. B. durch die Jodprobe das Verschwinden von Stärke oder durch die Moore'sche Probe das Auftreten von Zuckern zu erkennen.

Obwohl diese genaue chemische Untersuchung theoretisch natürlich das Ideal wäre, stösst sie doch in der Praxis auf grosse Schwierigkeiten, weil es sehr mühselig und unsicher ist, die einzelnen Kohlehydrate von einander zu trennen; und so sehen wir auch heute noch viele wichtige Fragen auf diesem Gebiete, wie z. B. die Existenz der Isomaltose, ungelöst, obwohl wir in der Osazonprobe ein Mittel gewonnen haben, das einige vorher dunkle Gebiete, z. B. die Existenz der Maltase, mit einem Schlage erleuchten konnte.

So hat man denn nach Methoden gesucht, um Einzelheiten im Reactionsverlauf, besonders die Entstehung eines bestimmten, für die

Wirksamkeit eines gesuchten Enzyms entscheidenden Kohlehydrates unabhängig von einer completen Analyse nachzuweisen. Hierher gehört besonders die auxanographische Methode von Beyerinck.[1]) Beyerinck weist die Existenz von z. B. Glucose nach, indem er Pilze, die nur auf Glucose (und der bei diesen Versuchen nicht in Betracht kommenden Fructose) wachsen, auf dem zu untersuchenden Gemisch aussät. Wachsen sie, so ist Glucose vorhanden, bleibt die Cultur steril, so fehlt sie. Auf diese Weise kann man z. B. Glucose neben Maltose durch Sacharomyces apículatus nachweisen, der Maltose nicht angreifen kann.

Die dritte Methode ist besonders von Wijsman zu Demonstrirung seiner zwei stärkespaltenden Enzyme angewendet worden und beruht auf der Diffusion. Man tränkt Gelatineplatten mit dem zu fermentirenden Substrat (Stärke) und bringt einige Tropfen der Fermentlösung auf einen Punkt dieser Platte. Dann diffundirt das Ferment langsam in die Stärkegelatine hinein und vollzieht dort seine Wirkung. Wendet man nun eine Farbenreaction an, die das ursprüngliche Substrat anders färbt, als die Spaltungsproducte, so entsteht um den Ort, wo man das Ferment hingebracht hat, ein Kreis, der anders gefärbt ist, als die übrige Gelatinemasse, z. B. bei einer Jodfärbung bei Stärke farblos gegen das Blau der Stärke. Sind verschiedene, dasselbe Substrat angreifende Fermente vorhanden, die verschieden schnell diffundiren, so entstehen noch Differentialfärbungen verschiedener Zonen (s. u. bei Wijsman's „Maltase").

Diastase.

Unter dem Namen Diastase, Amylase oder amylolytisches Ferment versteht man ein Enzym oder wohl eher mehrere ähnlich wirkende Enzyme, die die Fähigkeit haben, aus der Stärke durch einen hydrolytischen Process Maltose und Dextrine zu erzeugen.

Die Diastase findet sich in vielen pflanzlichen und thierischen Organen und Secreten; vor Allem im Malz, in Kryptogamen, im Speichel, in dem Pancreas und der Leber. Am längsten bekannt und am eingehendsten untersucht ist die Malzdiastase.

Die wissenschaftliche Entdeckung und die Namengebung der Diastase geschah im Jahre 1833 durch Payen und Persoz,[2]) nachdem die Verzuckerung der Stärke durch Malz bereits von Irvine[3]) und

1) Beyerinck, C. f. Bact. (II.) I. 221 (1895).
2) Payen und Persoz, Ann. d. ch. et phys. 53. 73.
3) Irvine cit. n. Payen und Persoz, l. c.

Kirchhoff[1]) beobachtet war und fast gleichzeitig mit ihnen Saussure[2]) den stärkelösenden Stoff untersucht und als an das Mucin des Klebers gebunden angenommen hatte. Die wesentlichsten Thatsachen hatte dann Dubrunfaut[3]) schon erforscht. Payen und Persoz versuchten durch Ausfällen mit Alkohol zu einer reineren Substanz zu gelangen. Aehnlich verfuhren Dubrunfaut,[4]) Baranetzky[5]) und Duquesnel.[6]) Mit den anderen Methoden der Enzymdarstellung versuchten Cohnheim[7]) (nach der Brücke'schen Pepsinbereitungsmethode, s. d.), Zulkowsky[8]) durch Ausschütteln der wässrigen Extracte mit Aether, wobei sie eine „froschlaichartige Gallerte" erhielten, und schliesslich Fällen mit Alkohol, später[9]) durch Glycerinauszüge, die mit Alkohol gefällt wurden, zu brauchbaren Diastasepräparaten zu gelangen. Am besten unter den älteren Methoden ist die von Lintner.[10]) Er extrahirte längere Zeit mit 20%igem Alkohol, fällte direct oder fractionirt mit Alc. absol. und verrieb das Präparat mit Alc. abs. und Aether. Die Präparate wurden dann noch mehrfach in Wasser gelöst und wieder gefällt. Er erhielt stets sehr aschenhaltige Präparate (ca. 10 Proc.), die dann durch Dialysiren von einem Theil der Asche befreit werden konnten. Ca. 5 Proc. neutrales Calciumphosphat blieben indess stets zurück. Glycerinextracte gaben sehr schwach wirksame Fermentlösungen. Osborne und Campbell[11]) haben durch Aussalzen mit Ammonsulfat, Wróblewski[12]) durch Extraction mit schwächerem Alkohol und Fällen mit starkem Diastasepräparate dargestellt, die er dann zur Gewinnung reinerer Präparate noch weiteren Reinigungsprocessen unterzog (s. u.).

Grüss[13]) erhielt diastatisch wirkende Glycerinlösungen, indem er ganz dünne Schnitte von Pflanzenkeimlingen lange in Glycerin liegen liess, wobei

---

1) Kirchhoff, Schweigg. Journ. XIV. 389 (1815).
2) Saussure, Poggendorff's Ann. XXXII. (1834). S. 194. Z. Geschichte der Diastase s. Dubrunfaut, Z. gesamt. Brauw. 1880. S. 99.
3) *Dubrunfaut, Mem. sur la sacharification. Soc. d. Agricult. Paris 1823.
4) Dubrunfaut, Dingler's polyt. Journ. 187. 491 (1868).
5) Baranetzki, Die stärkeumbildenden Fermente in d. Pflanzen. Leipzig 1878. S. 10.
6) *Duquesnel, Bull. d. Thérap. 87. S. 20.
7) Cohnheim, Virch. A. (1863). 28. S. 241.
8) Zulkowsky und König, Wiener Acad. Sitzb. Math. Nat. Cl. 71. II. 453.
9) Zulkowsky, ibid. 77. II. 647.
10) Lintner, Journ. pract. Ch. N. F. 34. 378. 36. 481 (1886/87).
11) Osborne und Campbell, Journ. Americ. Chem. Soc. XVIII. Chem. B. 29. (4). 1159 (1896).
12) Wróblewski, Z. phys. Ch. 24. 173.
13) Grüss, Jahrbüch. f. wissensch. Botanik. 26. 379.

die Diastase langsam, indess ziemlich frei von Gerbstoffen und Maltose in das Glycerin hineindiffundirt. Reychler[1]) erhielt durch Erwärmen von Weizenkleber mit sehr verdünnten Säuren auf 30—40° eine „künstliche Diastase". Es handelt sich hier wohl um Activirung des „Zymogens" durch die verdünnte Säure.

Eigenschaften der Diastase. Ueber die Natur des Enzymes gehen die Ansichten weit auseinander.

Während viele Forscher, wie Loew,[2]) Brown und Heron,[3]) Schwarzer,[4]) Osborne[5]) die Diastase für einen Eiweisskörper halten, und einige, Mulder (l. c.), Baranetzki (l. c. S. 54), Seegen und Kratschmer,[6]) Bizio,[7]) der aus Glycogen durch „Eiweissstoffe" reducirenden Zucker erhielt, u. A. den Eiweisskörpern im Allgemeinen diastatische Kraft zuschreiben, halten Barth,[8]) Lintner,[9]) Hüfner[10]) sie für wesentlich verschieden von den Eiweissstoffen, indessen für Oxydationsproducte derselben. Als thierisches Gummi oder einen diesem ähnlichen Stoff sprachen Landwehr und sein Schüler Hirschfeld[11]) die Diastase an; doch ist diese Ansicht sicher falsch, da die Diastase Stickstoff enthält. Sie haben wohl hauptsächlich das die Diastase begleitende Polysacharid in Händen gehabt. Wróblewski[12]) unterzieht in seiner umfangreichen Arbeit die früheren Untersuchungen einer Kritik und glaubt nunmehr mit voller Sicherheit den Nachweis geführt zu haben, dass die Diastase ein den Albumosen nahestehender Eiweisskörper ist. Das erste Präparat, das er erhielt, war noch ein Gemisch von Proteïn mit dextrinähnlichen Stoffen, das zu trennen ihm mit Hilfe von Kaliumquecksilberjodid gelang (l. c. S. 203). Das beigemengte Kohlehydrat erwies sich als ein Pentosan, lieferte mit verdünnter Schwefelsäure Arabinose, muss also als ein Araban aufgefasst werden. In einer neueren Untersuchung hat er die Diastase noch reiner erhalten durch fractionirtes Aussalzen mit Ammoniumsulfat.[13])

---

1) Reychler, Chem. B. 22. 414 (1889).
2) Loew, Pflüg. A. 27. 203.
3) Brown und Heron, Liebig's Ann. 199. 249.
4) Schwarzer, J. pr. Ch. [2]. I. 212 (1870).
5) Osborne, l. c.
6) Seegen und Kratschmer, Pflüg. A. XIV. 593.
7) Bizio, Compt. rend. 65. 175.
8) Barth, Chem. B. XI. 474.
9) Lintner, l. c.
10) Hüfner, J. pr. Ch. [2]. V. 372.
11) Hirschfeld, Pflüg. A. 39. 499.
12) Wróblewski, Z. ph. Ch. 24. 173.
13) Wróblewski, Chem. Ber. 31. 1130 (1898).

Dieses Präparat zeigt eine ausserordentliche Wirksamkeit, giebt die meisten Eiweissreactionen (Salpetersäure, Millon'sche, Biuret- und Xauthoproteïnreaction) und enthält 16,53 % N. Gerbsäure fällt sie aus, was schon Dubrunfaut[1]) erkannt hatte. Das noch nicht völlig reine Präparat giebt bei der Spaltung mit Zinnchlorür Leucin und Tyrosin, sowie wahrscheinlich auch Arginin.

Sie ist, allerdings wenig, diffusibel (Krabbe),[2]) nicht aber durch lebendes Protoplasma junger Pflanzenkeimlinge (Grüss).[3])

Analysen der Diastase liegen vor von Donath[4]), Zulkowski[5]) u. A., doch zeigen sie keine Uebereinstimmung und sind bei der zweifellosen Unreinheit der Präparate wertlos.

Durch Säuren und Alkalien wird sie natürlich zerstört, schon in relativ geringer Concentration.

Pepsin zerstört sie, nicht aber Trypsin (Wroblewski).[6])

In trockenem Zustande kann sie bis auf ca. 150° erhitzt werden, bei 158° verliert sie ihre Wirksamkeit (Hueppe).[7])

Dagegen wird sie in wässriger Lösung, wie alle Enzyme, bei ca. 80° sicher zerstört, doch sind die einzelnen Zahlenangaben sehr different. Sicher ist, dass auch die Diastase, wie die Fermente gewöhnlich, gegen den Einfluss hoher Temperaturen durch die Anwesenheit ihres specifischen Substrates in gewissem Sinne geschützt wird, so dass der Zerstörungspunkt dadurch heraufgerückt wird (Lintner).[8])

Bestimmung der diastatischen Wirksamkeit: Quantitative Bestimmungen der durch die Diastase entstehenden Mengen von Maltose sind u. A. von Musculus,[9]) Payen,[10]) Schwarzer,[11]) O'Sullivan,[12]) Baranetzki[13]) gemacht worden. Letzterer zeigte auch zuerst, dass auch die Stärkekörner von Diastase angegriffen werden, am schwersten Kartoffelstärke (l. c. S. 38).

---

1) Dubrunfaut, Dingler's polytechn. Journ. **187** (1868). S. 491.
2) Krabbe, Jahrb. f. wissensch. Bot. XXI. 520 (1890).
3) Grüss, ibid. XXVI. 379.
4) Donath, Chem. B. VIII. 795.
5) Zulkowski, l. c. 654.
6) Wróblewski, Z. phys. Ch. **24**. 173.
7) Hueppe cit. n. Fermi und Pernossi, Z. f. Hyg. XVIII. 83.
8) Lintner, J. pract. Ch. N. F. **36**. 481 (1887).
9) Musculus, Ann. d. phys. et chim. (3). **60**. S. 203.
10) Payen, ibid. (4). IV. 286. VII. 382.
11) Schwarzer, J. pr. Ch. N. F. I. (1870). S. 212.
12) O'Sullivan, Journ. chem. Soc. 1876. II. S. 125.
13) Baranetzki, l. c. S. 27 ff.

Kübel[1]) wies den Zucker durch Gelbfärbung mit Natronlauge nach und bestimmte seine Menge vergleichend colorimetrisch mit Hilfe einer Kaliumchromatlösung.

Cripps[2]) untersuchte den zeitlichen Verlauf der diastatischen Wirkung des Malzextracts, die sich auf verschiedene Stärkearten verschieden energisch äussert. Detmer[3]) prüfte den Fortgang der diastatischen Zerlegung durch die Jodreaction, die von blau über violett, roth, gelb, zu farblos übergeht.

Wróblewski[4]) benutzte zu diesem Zweck die sogenannte „lösliche Stärke", die er mittelst eines eigenen Verfahrens herstellte. Die entstehenden reducirenden Kohlehydrate wurden mit Fehling'scher Lösung erwärmt und die ausgeschiedene Kupfermenge nach der Allihn'schen Methode bestimmt.

Eine bequeme Methode zur Bestimmung der diastatischen Kraft des Malzextractes haben ferner Sykes und Mitchell[5]) angegeben.

Eine auf dem Verschwinden der Jodstärkereaction beruhende Methode der Diastasimetrie rührt von Roberts[6]) her.

Lintner[7]) hält die Jodreactionen nicht für geeignet, die diastatische Wirkung verschiedener Fermentlösungen zu vergleichen.

Er hat dafür ein Verfahren ausgearbeitet, das die reducirende Kraft des entstehenden Zuckers aus gleichen Stärkemengen zum Maassstab nimmt.

Er lässt von der auf ihre Wirksamkeit zu prüfenden Fermentlösung verschiedene Mengen auf gleiche Stärkemengen einwirken und bestimmt diejenige Quantität der Fermentlösung, die soviel Zucker erzeugt, dass eine bestimmte Menge Fehling'scher Lösung gerade noch reducirt wird. Als Einheit der fermentativen Kraft ($F = 100$) nimmt er eine Diastase, von der 0,03 ccm einer Lösung von 0,1 : 250,0, also 0,12 mg aus 10 ccm einer 2% Lösung von löslicher Stärke bestimmter Herstellung innerhalb einer Stunde bei gewöhnlicher Temperatur soviel Zucker bilden, dass gerade 5 ccm Fehling'scher Lösung reducirt werden. Brauchte er z. B. von einem Präparat unter denselben Bedingungen 0,24 mg, so hätte dies eine fermentative Kraft $F = 50$ etc.

Bedingungen der Diastasewirkung: Mit Hilfe dieser Methoden hat man nun versucht, den Einfluss von verschiedenen Agentien

1) Kübel, Pflüg. A. 76. 276 (1898).
2) Cripps, Chem. Centralbl. 1890. I. 324.
3) Detmer, Z. phys. Ch. VII. 1 (1882).
4) Wróblewski, Z. phys. Ch. 24. 173.
5) Sykes und Mitchell, Analyst. 21. 122 (1896).
6) Genau beschrieben bei Gamgee, Physiol. Ch. d. Verdauung l. c. S. 55. s. a. Maly's Jb. XI. 356.
7) Lintner, J. pract. Ch. N. F. 34. 378 (1886).

Zusatz desselben Substrates dasselbe erreicht wird, was Tamman (s. S. 58) mit einem ähnlichen Substrat, nämlich Salicin bei einem Emulsin-Amygdalingemisch erreicht hat.

Von besonderem theoretischen Interesse ist die damit zusammenhängende Frage, ob die Wirksamkeit der Diastase durch die aufgehäuften Spaltproducte gehindert wird.[1])

Allerdings wird die Diastasewirkung mit fortschreitender Hydratisirung immer schwächer, doch soll nach der Ansicht mehrerer Autoren daran nicht die Aufhäufung der Spaltproducte die Schuld tragen.

Wortmann[2]) betont, dass eigentlich ein Versiegen der diastatischen Wirkung bei genügender Zuckerbildung für die Pflanze physiologisch nöthig sei, und dass man darum a priori das Gegentheil von dem vermuthen sollte, was sich experimentell ergeben hat. Sonst muss man auf die Ansicht von Baranetzki[3]) zurückgreifen, der eine intermittirende Production von Diastase annimmt. Diese Anschauung stimmt auch zu der überall wieder zu constatirenden Thatsache, dass die lebende Zelle nur dann Enzyme producirt, wenn sie ihrer Wirksamkeit benöthigt ist, worauf wir im allgemeinen Theil bereits hingewiesen haben. Doch wird diese Nichtbeeinflussung durch die Spaltproducte wieder von Müller-Thurgau geleugnet.

Müller-Thurgau[4]) hat die Einwirkung der Temperatur auf die Diastasewirkung genau untersucht. Er findet, dass bei niederen Temperaturen von 0°—20° die zersetzten Mengen gleichmässig mit der Zeit fortschreiten, dass dagegen bei höherer Temperatur die Wirksamkeit allmählich abnimmt, zunächst wegen der zunehmenden Verdünnung des Substrats, dann aber auch wegen des störenden Einflusses der aufgehäuften Spaltproducte. Dadurch wird die Grösse der Zunahme bei höherer Temperatur etwas beeinträchtigt. Untersuchte er nur die Resultate kurzdauernder Einwirkung, so fand er für die Zunahme der Wirkung von 0° zu 10°, 20°, 30°, 40° folgende Reihe:

$$7 : 20 : 38 : 60 : 98.$$

Kohlensäure beschleunigt die diastatische Wirkung energisch,[5]) ebenso Zunahme des Druckes, noch wirksamer aber, als der Summe dieser Factoren entspricht, erwies sich Kohlensäure unter höherem Druck, die auch eine lebhafte Einwirkung der Diastase auf nicht verkleisterte Stärke erzeugte.

---

1) vgl. Brown und Heron, Ann. d. Chem. u. Pharm. 199. 247 (1880).

2) Wortmann, Z. phys. Ch. VI. 324.

3) Baranetzki, l. c. S. 62.

4) Müller-Thurgau, Thiel's Landw. Jahrbüch. 1885. 795.

5) Uebereinstimmend mit Detmer, Z. phys. Ch. VII. 1 (1882).

Ueber die Einwirkung von Sonnenlicht, speciell auf Diastase, hat Green[1]) eine ausführliche Untersuchung angestellt, die für die Frage nach der Verwerthung des pflanzlichen Reservematerials bei verschiedener Bestrahlung grosses Interesse verdient.

Er fand, dass die ultravioletten Strahlen stark schädigend auf die Diastase, speciell des Malzes einwirken; schädigend wirken ferner die grünen Strahlen. Fördernd dagegen wirken verschiedene Stellen des Spectrums, besonders im Roth, Orange und Blau, doch auch nur vorübergehend; später trat stets Zerstörung ein, die ursprüngliche Zunahme wird dadurch bedingt, dass Zymogen in actives Ferment übergeht. Die verschiedenen Diastasen verhalten sich verschieden, die des Malzextracts wird zu 68%, Speicheldiastase zu 45%, die des Blätterextractes nur zu 8% zerstört. Green nimmt hier eine schützende Wirkung des Chlorophylls an.

Einwirkung auf verschiedene Stärkearten: Während die Diastase verkleisterte Stärke im Allgemeinen sehr leicht und schnell verflüssigt und spaltet, verhalten sich die rohen Stärkekörner der diastatischen Einwirkung gegenüber sehr verschieden. In der Kälte löst sich Gersten- und Weizenstärke ziemlich schnell, während sich Kartoffelstärke fast gar nicht löst. Auch bei höherer Temperatur verhalten sich die einzelnen Stärkearten durchaus verschieden. Bei 50° löst sich nach Lintner[2]) 12% Gerstenstärke, 2% Maisstärke, aber 29% Grünmalzstärke, bei 55° Kartoffel 5%, Gerste 53%, Grünmalz 58%, bei 60° Kartoffel 52%, Gerste 92%, Mais 18%. Vielfach führt man diese Verschiedenheiten auf die physikalische Structur der Stärkekörner, die zum Theil auch im Kleister erhalten bleiben soll, zurück und will daraus auch die Verschiedenheiten der Dextrine als nur physikalische ableiten; die scheinbaren Zwischenstufen sollen dadurch vorgetäuscht werden, dass sich der Process der Sacharificirung an verschiedenen Partien des Stärkekleisters in verschiedenen Stadien befindet. Diese Ansicht, die u. A. von Pottevin[3]) vertreten wird, würde all die mühsamen Arbeiten über die Dextrine werthlos machen, ist aber kaum genügend begründet.

Der Abbau der Stärke durch Diastase: Trotzdem eine grosse Anzahl von Forschern an diesem schwierigen Problem ihre Kräfte erprobt haben, ist über diese wichtige Frage noch keine Einigung erzielt. Es liegt dies vor Allem an der grossen Schwierigkeit, die bei dem diastatischen Process entstehenden Producte in reiner Form zu gewinnen und von den anderen zu trennen.

---

1) Green, Philosoph. Transact. 188. 167 (1897).
2) Lintner, l. c.
3) Pottevin, Thèse. Paris 1899. Mon. scientifique. 1900. S. 116.

Sichergestellt ist nur, dass bei der diastatischen Spaltung einerseits reducirende Zucker, und zwar Hexobiosen entstehen; andererseits amorphe, nicht krystallisirende, complexe Polysacharide, die wenig oder gar nicht reduciren und bei der Säurespaltung Glucose liefern, die Dextrine.

Sobald wir aber über diese Grundthatsachen hinausgehen, treffen wir fortwährend auf Widersprüche. Da die auf diesem Gebiete thätigen Untersucher in ihren Angaben selbst in den wesentlichsten Punkten von einander abweichen, so ist es nach den heute vorliegenden Befunden noch nicht möglich, die Frage in klarer Darlegung aufzurollen.

Betrachten wir zunächst die Natur der entstehenden Hexobiosen, so ist nur über allen Zweifel erhaben, dass jedenfalls Maltose entsteht. Daneben soll nach der Ansicht verschiedener Autoren noch ein der Maltose isomeres Disacharid, die Isomaltose entstehen, deren Existenz von Anderen durchaus bestritten wird. Wir werden unten darauf zurückkommen.

Noch viel schwieriger aber ist es, sich auf dem Gebiete der nichtkrystallisirbaren Antheile der diastatischen Producte zu orientiren, die man mit dem Sammelnamen Dextrine bezeichnet. Während einige alle gefundenen Differenzen zwischen den einzelnen Dextrinen als unwesentlich bei Seite schieben und nur ein Dextrin anerkennen, nehmen Andere eine mehr oder weniger grosse Anzahl von Dextrinen an; und fast Jeder vertritt eine eigene, von den übrigen Autoren nicht getheilte Ansicht. So ist es denn, besonders da noch eine bedeutende Verwirrung in der Nomenclatur als erschwerendes Moment hinzukommt, eine fast unlösbare Aufgabe, den heutigen Stand der Frage zu präcisiren.

Der Name Dextrin rührt von Biot her, der aber darunter einen sich noch mit Jod färbenden Stoff verstand, also ungefähr das, was man später als „lösliche Stärke" bezeichnet hat. Erst Béchamps nannte die mit Jod nicht mehr färbbaren Substanzen Dextrin.

Brücke[1]) unterschied zuerst zwei Dextrine. Er fand, dass das eine mit Jod noch eine Rothfärbung ergiebt und nannte dies Erythrodextrin; das andere mit Jod nicht mehr reagirende Achroodextrin. Das letztere, das wohl auch mit dem Dextrinogen Nasse's[2]) identisch ist, ist in seiner Existenz sichergestellt, während die chemische Individualität des Erythrodextrins angezweifelt wird.

---

1) Brücke, Sitz.-B. d. Wiener Acad. Math. Phys. Cl. 1872. III. 126 (dort d. ältere Litt.).

2) Nasse u. A., Pflüg. A. XIV. 477 (1877).

Zu diesen zuerst angenommenen Dextrinen kam dann noch als erstes Abbauproduct die mit Jod sich noch blau färbende, aber in Wasser lösliche, sogenannte „lösliche Stärke". Bondonneau[1]) rechnete sie indess nicht zu den Dextrinen, sondern noch zur Stärke und unterschied ausserdem drei Dextrine. Dagegen erklärten Musculus und Gruber[2]) die lösliche Stärke für ein zu den Dextrinen gehöriges Abbauproduct.

Sie unterschieden ferner drei Achroodextrine (α, β, γ), die sich durch Drehung und Reductionskraft unterscheiden sollen. Später nahmen besonders Brown und seine Mitarbeiter eine sehr grosse Anzahl von Dextrinen als Zwischenstufen an, worauf wir bei der Besprechung der Theorien des Abbaus näher eingehen werden.

Dagegen nehmen Brown und Millar[3]) in ihrer letzten Arbeit ein einziges, wohlcharacterisirtes Achroodextrin als ein Endproduct der diastatischen Wirkung an. Brown hatte schon früher[4]) darauf hingewiesen, dass der diastatische Process unter 60° stets bei einem Stadium Halt macht oder wenigstens von da an nur sehr langsam fortschreitet, wo die reducirende Kraft = 80 Proc. auf Glucose berechnet und die spec. Drehung $[\alpha]_D = 150^0$ ist. In dieser Arbeit versuchen nun Brown und Millar den Nachweis zu erbringen, dass hierbei nur Maltose neben einem einheitlichen Achroodextrin entsteht, das sie genauer untersucht haben.

Es wird von Diastase nur sehr langsam weiter angegriffen, zeigt eine spec. Drehung $[\alpha]_D$ von 197—198° und hat eine nicht auf Beimengungen zurückzuführende Reductionskraft von 5,5 Proc. Es geht nämlich bei vorsichtiger Oxydation in eine Säure, dextrinic acid über, die die Existenz einer freien reducirenden Aldehydgruppe in diesem Dextrin beweist. Sie geben ihm eine Constitution, nach der es durch Austritt von 39 Mol. Wasser aus 40 Mol. Glucose entsteht.

Wenn diese Befunde sich bestätigen, so wäre damit die Frage der Achroodextrine aufgeklärt. Weniger gründlich erforscht ist die Frage nach der Natur des Erythrodextrins und der damit wohl identischen Erythrogranulose Wijsman's, auf die wir noch zurückkommen werden.

Noch unklarer ist das sog. Amylodextrin. Es wurde zuerst von Nägeli[5]) durch Spaltung der Stärke mit sehr schwachen Säuren in

1) Bondonneau, C. R. 81. 972. 1210. Bull. Soc. Chim. 23. 98 (1875).
2) Musculus und Gruber, Z. phys. Ch. II. 188 (1878).
3) Brown und Millar, Journ. of chem. soc. 75. 315 (1899).
4) Brown und Heron, Journ. of chem. soc. 35. 596 (1879).
5) Nägeli, Beiträge z. Kenntniss der Stärkegruppe. Leipzig 1874. cit. n. Brown und Morris, s. f. S.

der Kälte erhalten. Späterhin wurde es häufig mit der „löslichen Stärke" in engen Connex gebracht.

Brown und Morris[1]) nehmen im Gegensatz dazu für das Amylodextrin eine eigene chemische Individualität in Anspruch.

Sie stellten es als einen einheitlichen Stoff dar, dem sie die Formel $(C_{12}H_{10}O_{10})_6\,C_{12}H_{22}O_{11}$ zuschreiben, die sie durch eine Moleculargewichtsbestimmung bestätigen konnten. Es enthält also im Sinne der Brown'schen Hypothese (s. u.) sechs „Amylin-" und eine „Amylongruppe". Es ist unvergährbar und bildet dem Inulin sehr ähnliche Sphärokrystalle. Sie erhielten es durch sehr langsame Hydrolyse unverkleisterter Stärke mit 0,2 %iger Schwefelsäure; es soll aber auch bei der diastatischen Spaltung sich bilden. Später haben dann Brown und Millar[2]) es durch Ueberführung in das Nitrat gereinigt und identificirt. Es ist dem Maltodextrin (s. u.) sehr nahestehend.

Ein in verdünntem Alkohol lösliches Dextrin, das Maltodextrin, wurde von mehreren Autoren beschrieben (Herzfeld,[3]) Brown und Morris).[4])

Doch zeigten diese einzelnen Maltodextrine wenig Uebereinstimmung. Besonders die Frage nach der Gährfähigheit ist von Herzfeld positiv, von Brown und Morris ablehnend beantwortet worden. Später ist dann von Schifferer[5]) die Existenz eines derartigen Maltodextrins wieder direct geleugnet worden, der es als eine unreine Isomaltose auffasst. Jedoch halten Brown[6]) und seine Mitarbeiter an seiner Existenz fest und behaupten wieder, dass die Isomaltose nur ein Gemenge von Maltodextrin und Maltose sei. Sie geben dem Maltodextrin die Formel:

$$\begin{array}{l} O \lt \begin{array}{l} C_{12}H_{21}O_{10} \\ C_{12}H_{20}O_{9} \end{array} \\ O \lt \begin{array}{l} \phantom{C_{12}H_{20}O_{9}} \\ C_{12}H_{21}O_{10} \end{array} \end{array}$$

mit einer freien CHO Gruppe. Die Frage ist noch weit davon entfernt, zu irgend einer Klärung gelangt zu sein.

Beyerinck[7]) vermehrt die Nomenclatur mit einem neuen Dextrin, Leukodextrin, das sich etwas resistenter gegen Diastase verhält und

1) Brown und Morris, J. chem. Soc. 55. 449 (1889) u. Z. f. d. ges. Brauw. 1889. 437.

2) Brown und Millar, J. chem. Soc. 75. 311 (1899).

3) Herzfeld, Ueber Maltodextrin. Inaug.-Diss. Halle 1879.

4) Brown und Morris, Journ. Chem. Soc. 47. 527 (1885). dort Litt. d. ält. Periode.

5) Schifferer, Die nichtkrystallisirb. Prod. d. Einw. von Diastase auf Stärke. Diss. Basel 1892.

6) Brown und Millar, Journ. Chem. Soc. 75 (1899). 286. 315.

7) Beyerinck, C. f. Bact. (II). 1. 221 (1895).

schon mit ziemlich schwachem Alkohol fällbar ist. Er giebt selbst an, dass es kein chemisches Individuum ist, und will mit dem Sammelnamen nur genetische Beziehungen zur Stärkecellulose Nägeli's andeuten.

Wir haben also folgende Dextrine zu verzeichnen, wenn wir die „lösliche Stärke" nicht mitrechnen:

1) Erythrodextrin (incl. der Erythrogranulose Wijsman's) wird durch Diastase weiter verändert, durch Alkohol schon bei geringerer Concentration gefällt; färbt sich mit Jod röthlich-violett.

2) Achroodextrine werden durch Diastase nicht weiter verändert, wahrscheinlich aber durch Maltase; sind durch Alkohol fällbar, färben sich nicht mit Jod, haben schwache Reductionskraft.

3) Amylodextrin von Brown und Morris, durch Diastase weiter gespalten, reducirt, ist erst durch stärkeren Alkohol fällbar. Giebt mit Jod Purpurfärbung, dreht 4 Mal stärker als Glucose, kann aus der wässrigen Lösung durch Ausfrieren erhalten werden.

4) Maltodextrin von Brown und Morris, löslich in Alkohol, Existenz fraglich.

Charakteristisch für alle Dextrine ist die mangelnde Krystallisationsfähigkeit, Leichtlöslichkeit in Wasser und Rechtsdrehung der Polarisationsebene. Durch Säuren gehen sie alle in Glucose über.

Ganz im Gegensatz zu diesen Ansichten stehen die Befunde von Pottevin,[1]) der die beobachteten Verschiedenheiten der einzelnen Dextrine auf wechselnde Beimengungen von Maltose, sowie auf die Inhomogenität der ursprünglichen Stärkekörnchen zurückführen will. Insbesondere leugnet er die Existenz eines Maltodextrins als chemischen Körpers, da er es durch fractionirte Alkoholfällung in anderes Dextrin und Maltose zerlegt haben will. Er erhielt durch fractionirte Alkoholfällung beliebig viele Dextrine, die in allen Abstufungen von der löslichen Stärke zum Maltodextrin führten und bei der weiteren Spaltung wechselnde Mengen Maltose lieferten. Die Jodfärbung soll sehr von der Grösse der ursprünglichen Körnchen abhängen.

Das Glycogen scheint sich etwas abweichend zu verhalten. Während es bei der Säurespaltung Producte liefert, die der löslichen Stärke und dem Erythrodextrin entsprechen, findet sich unter den Producten der Diastasespaltung nur ein dem Achroodextrin ähnliches Product, das durch Diastase nicht weiter abgebaut wird, das Dystropodextrin, aber kein dem Erythrodextrin entsprechender Körper. Nur die Leberdiastase bildet auch etwas Erythrodextrin (Tebb).[2])

Maltose: Der reducirende Zucker, der bei der Diastasewirkung

1) Pottevin, Thèse. Paris 1899. c. n. Moniteur scientif. 1900. S. 116. s. a. C. R. **126.** 1219 (1898).

2) Tebb, Journ. of physiol. XXII. 427 (1898).

entsteht, wurde zunächst für Glucose[1]) gehalten; Dubrunfaut[2]) fand zuerst, dass der dabei entstehende Zucker von der Glucose verschieden ist und nannte ihn Maltose. Diese wichtige Beobachtung wurde völlig vergessen und erst von O'Sullivan[3]) wieder neu aufgefrischt. Durch die Arbeiten von Maercker,[4]) E. Schulze[5]) u. A. (s. a. b. Speicheldiastase) wurde dann mit Sicherheit constatirt, dass hier ein von der Glucose verschiedener Zucker gebildet würde, den man dann allgemein als Maltose bezeichnet hat.

Die Maltose ist nach der Nomenclatur von E. Fischer eine Glucobiose von der Formel $C_{12}H_{22}O_{11}$, die Fehling'sche Lösung reducirt und eine viel grössere specifische Drehung als Glucose zeigt.

Gegen Diastase ist sie beständig, wird dagegen durch ein ihr angepasstes Enzym, die Maltase (s. d.), in zwei Molecüle d-Glucose gespalten.

Sie reducirt nicht neutrales Kupferacetat (Barfoed Reagens).[6])

Isomaltose: Neben der Maltose soll bei der Diastasewirkung noch eine ihr isomere Glucobiose entstehen, die Isomaltose, die andere Eigenschaften aufweist und schwieriger mit Hefe gährt.

Sie ist zuerst von E. Fischer[7]) synthetisch aus Glucose dargestellt worden. Dann fand sie Lintner[8]) als Product des diastatischen Abbaus der Stärke und hat sie genauer untersucht.

Trotzdem Brown und Morris[9]) ihre selbstständige Existenz leugnen und sie als unreine Maltose bezeichnen, halten die Autoritäten an ihrer Individualität fest.[10]) Sie ist aber in reinem Zustande noch nicht bekannt.

Theorien des Abbaus: Ueber den chemischen Vorgang des Abbaus der Stärke ist viel discutirt worden. Absolute Beweiskraft kann

---

1) Zuerst gefunden von Guerin-Varry, Ann. Chim. Phys. (2). **36**. 225.

2) Dubrunfaut, Ann. d. chim. et phys. [3]. **21**. 178 (1847).

3) O'Sullivan, Journ. of the Chem. Soc. 1876. II. 125.

4) Maercker, Thiel's Landwirthsch. Jb. 1877. Suppl.-H. S. 286.

5) E. Schulze, Chem. B. VII. 1047.

6) Musculus und v. Mering, Z. ph. Ch. II. 403 (1878).

7) E. Fischer, Chem. B. **23**. 3687 (1890). s. a. Scheibler und Mittermeier, Chem. B. **24**. 303 (1891).

8) Lintner, Z. f. das ges. Brauwesen. **1891**. 281. **1892**. 6. 123. Lintner und Düll, Z. f. angew. Ch. 1892. 263. Lintner, Z. f. d. ges. Brauw. **1894**. 414. s. a. Ling und Baker, Journ. Chem. Soc. **67**. S. 702. 739.

9) Brown und Morris, Journ. Chem. Soc. **67**. 709 (1895).

10) s. u. a. E. Fischer, Z. ph. Ch. 26. S. 71 (1898).

keine der Theorien haben, so lange die Constitution und die Moleculargrösse der Stärke und der Dextrine unbekannt sind.

Zuerst glaubte man an eine successive Umwandlung der Stärke in Dextrin und des Dextrins in Zucker. Die Spaltungstheorie in Dextrin und Maltose verfocht hartnäckig gegen zahlreiche Gegner Musculus in den oben citirten Arbeiten, bis es ihm schliesslich gelang, mit Gruber zusammen den exacten Nachweis zu führen, dass die Stärke in Dextrin und Maltose gespalten wird.

Brown und Heron[1]) nahmen in ihrer umfassenden Arbeit für die „lösliche Stärke“ die Formel $(C_{12}H_{20}O_{10})^{10}$ an. Durch Wasseraufnahme geht diese in das Erythrodextrin $(C_{12}H_{20}O_{10})^{9}$ und ein Molecül $C_{12}H_{22}O_{11}$ (Maltose) über. So geht eine stufenweise Abspaltung von Maltose vor sich, bis endlich bei der achten Hydrolyse die Reaction zum Stillstand kommt. Dann sind 81% Maltose und 19% des letzten Achroodextrins vorhanden. Ihnen schloss sich Bourquelot[2]) in seiner Anschauung ziemlich genau an.

Brown und Morris[3]) vertreten dann später eine complicirtere Theorie. Nach ihrer Auffassung gruppiren sich je vier Dextrinkerne um einen fünften, und bei der Spaltung zerfällt der ganze Complex. Diese 5 Dextrinkerne haben jeder die Constitution $(C_{12}H_{20}O_{10})_{20}$, und dieses Dextrin, das sich mit Jod nicht färbt, also dem Achroodextrin entspricht, ist das einzige wirkliche Dextrin. Ferner nehmen sie noch zahlreiche Zwischenstufen, die Amyloïne an, die sich aus einer Combination von Amylinkernen $C_{12}H_{20}O_{10}$ und Amylonkernen $C_{12}H_{22}O_{11}$ zusammensetzen. So soll das Amylodextrin z. B. aus 6 Amylinen und 1 Amylon, das Maltodextrin aus 2 Amylinen und 1 Amylon bestehen. Ausserdem soll es noch viele andere Amyloïne, auch mit mehreren Amylongruppen geben, die u. a. bei der Nachgährung der Biere eine Rolle spielen. Lintner und Düll[4]) haben diese Theorie einer energischen Kritik unterzogen, deren Hauptresultat das ist, dass die „Amyloïne“ wechselnde Gemische von Dextrinen und Isomaltose sind (s. o.). Sie nehmen an, dass beim diastatischen Abbau drei Dextrine, die den alten Begriffen des Amylodextrins, Erythrodextrins und Achroodextrins entsprechen, gebildet werden, und zwei Glucobiosen, Maltose und Isomaltose, welche letztere sie in Brown's Maltodextrin nachgewiesen haben wollen.

---

1) Brown und Heron, Liebig's Ann. 199. 165 (1880).

2) Bourquelot, Compt. rend. 104. 576.

3) Brown und Morris, Journ. Chem. Soc. 55. 462 (1889). 69. 709 (1895).

4) Lintner und Düll u. A., Chem. B. 26. 2533 (1893). Schifferer, Diss. Basel 1892.

Die Zweienzym-Theorie: Eine wesentlich andere Anschauung über das Wesen der Einwirkung von Malzextract auf Stärke vertritt Wijsman.[1]) Er nimmt nicht ein einheitliches Ferment Diastase an, sondern supponirt die Existenz zweier verschiedener Enzyme, die er mit den Namen Maltase und Dextrinase belegt. Die Zweitheilung der diastatischen Fermente ist nach seiner Angabe schon von Cuisinier präcise postulirt worden, der auch schon die angeführten Namen gewählt hat. Die Namen sind nun allerdings beide unhaltbar. Maltase ist mit Recht das maltosespaltende Enzym genannt worden; und Dextrinase wäre nach den Principien der Fermentnomenclatur ein Ferment zu nennen, das Dextrine spaltet. Im Gegentheil nimmt aber Wijsman an, dass die Dextrinase secundär die aus der Stärke zuerst durch Einwirkung seiner „Maltase“ entstehende Erythrogranulose, die neben der Maltose entsteht, in Maltodextrin weiter überführt. Die Erythrogranulose ist also neben Maltose das primäre Product der Fermentwirkung.

Wijsman demonstrirt die Wirkung seiner beiden Fermente durch seine oben erwähnte Diffusionsmethode. Wenn er auf eine mit Stärke getränkte Gelatineplatte einige Tropfen Diastaselösung bringt, so breitet sich diese concentrisch aus. Färbt er nun mit Jod, so entsteht in der Mitte, wo also beide Fermente gewirkt haben sollen, ein ungefärbter Fleck, der von einem violetten Hof umgeben ist; letzterer soll die ausschliessliche Wirkungszone der „Maltase“ (Bildung von Erythrogranulose) demonstriren, während die farblose Centralzone die Thätigkeit der „Dextrinase“ demonstrirt. Wo die Fermente gar nicht gewirkt haben, herrscht natürlich die blaue Farbe der Jodstärke vor.

Er giebt ferner an, dass die „Maltase“ schon bei 55° unwirksam wird, während die „Dextrinase“ Temperaturen bis zu 75° erträgt. Dies widerspricht vielfachen Angaben, dass durch Erwärmen diastatisch wirkender Lösungen gerade die Fähigkeit der tiefergehenden Spaltungen intensiver geschwächt wird, als die Bildung der ersten Abbauproducte.

Die Dextrinase soll hauptsächlich in der Rindenzone der gekeimten Malzkörner sich finden; aus geperltem Malz will er demgemäss reine „Maltase“ ohne Dextrinase isolirt haben, die ihm dann aus Stärke neben Maltose reine Erythrogranulose geliefert hat. Diese ist in Wasser leicht löslich, aber durchaus verschieden vom Amylodextrin.

Beyerinck[2]) hat diese Ansicht im Wesentlichen acceptirt, nimmt aber an, dass die „Dextrinase“ nicht präformirt im Malzextract vor-

1) Wijsman, Recueil d. trav. chim. des Pays-Bas. IX. S. 1.
2) Beyerinck. C. f. Bact. (II). I. 229 (1895).

kommt, sondern aus einem wieder anderen Enzym der „Granulase“, die aus der Stärke Maltose und Achroodextrin (Maltodextrin) erzeugt, durch Erhitzen gebildet wird; dadurch soll der „Granulase“ zwar die dextrinbildende Function erhalten bleiben, die maltosebildende dagegen verloren gehen. Andere Granulasen sind nicht so empfindlich, woraus sich eine Verschiedenheit der Granulasen verschiedener Herkunft ableiten lässt.

Er unterscheidet dann „Alkaligranulasen“, zu denen die Speichel- und Pancreasdiastase gehört und Säuregranulasen. Zu diesen gehören die Granulasen des Weizens, Roggens und der Gerste, davon abweichend die Buchweizengranulase als Prototyp der Dicotyledonengranulasen, die Maisgranulase und die des Granulobacter.

Seine „Maltase“ findet sich weit verbreitet im Pflanzenreich. Sie spaltet Stärke in Erythrodextrin und Maltose. Es wäre entschieden praktischer, diese beiden Enzyme als Erythroamylase (Granulase) und Achrooamylase (Maltase) zu unterscheiden, wenn sie überhaupt existiren.

Pottevin [1]) glaubt ebenfalls, dass der Abbau in zwei successiven Phasen vor sich geht. Auch er nimmt zwei verschiedene Enzyme an, eine „Dextrinase“, die die Stärke in Dextrin überführt, und die eigentliche „Amylase“, die die weitere Verarbeitung zu Maltose vollzieht. [2]) Diese Idee scheint mir sehr unglücklich. Abgesehen davon, dass die beiden Enzyme ganz constant sich überall zusammenfinden müssten, was man sich ja vorstellen könnte, so ist es doch nicht zu erklären, warum die „Amylase“ stets einen erheblichen Theil des Dextrins und noch dazu stets einen constanten Theil des Dextrins nicht weiter verändert. Warum stellt sie stets bei demselben Verhältniss von Dextrin zu Maltose ihre Thätigkeit ein? Zur Bekräftigung zieht er den Befund heran, dass man durch kurzes Erhitzen auf 80 ^{0} (5 Min.) der Diastase die zuckerbildende Function nehmen kann, ohne die stärkelösende zu zerstören. Es ist hier wohl eher im Sinne von Tamman eine durch Schwächung des Fermentes bedingte vorzeitige Herbeiführung des Endzustandes anzunehmen. Die Frage nach der Existenz und der Natur zweier Enzyme in diastatisch wirkenden Flüssigkeiten bedarf der weiteren Aufklärung.

---

1) Pottevin, Thèse. Paris 1899. Ref. in Moniteur scientif. 1900. 116.

2) Die Namen sind ganz unpraktisch. Ueber Dextrinase, die übrigens wieder etwas anderes ist als die Wijsman'sche, deren Existenz allerdings von Beyerinck geleugnet wird, s. o. Wie aber ein dextrinspaltendes, maltosebildendes Enzym zu den Namen Amylase kommt, ist absolut nicht zu verstehen, da es mit Stärke überhaupt nichts zu thun hat. Hier wäre der Name Dextrinase passend und als Amylase das einzige stärkespaltende Ferment zu bezeichnen, wenn Pottevin's Befunde richtig sind.

Vorkommen diastatischer Fermente im Pflanzenreich: Die diastatischen Fermente sind im Pflanzenreich weit verbreitet.

Ausser in der keimenden Gerste, wo sie ihre praktisch wichtigste Rolle spielen, fand man sie auch in anderen keimenden Samen, so im Hafer, Weizen, Mais, Reis, in Kartoffelknollen (Payen und Persoz),[1]) Wicken etc. (v. Gorup-Besanez);[2]) auch in ruhenden Samen, jedoch viel spärlicher (Kjeldahl),[3]) in Kieferpollen (Erlenmeyer),[4]) den Knospen von Ailanthus glandulosa (Payen und Persoz)[1]) etc.

Im Milchsaft von Ficus carica fand sie Hansen.[5]) Namentlich Baranetzki[6]) suchte sie mit Erfolg in sehr vielen pflanzlichen Organen und Säften; er fand sie weit verbreitet in Samen, Knollen, Blättern, Wurzeln etc.; in stärkehaltigen Säften allgemein (Mulder).[7])

In Blättern fand sie Brasse,[8]) in der Zuckerrübe (Beta vulgaris) Gonnermann.[9])

So neigte man denn bald zu der Annahme, dass die Diastase in den Pflanzen überall da gegenwärtig sei, wo Stärke umgesetzt wird und schob ihr die wichtige Aufgabe zu, die gesammte stärkelösende Thätigkeit der Pflanze zu erfüllen, eine Ansicht, der besonders von Detmer[10]) Ausdruck gegeben wurde.

Indessen ist die Diastase wahrscheinlich doch nicht überall in den stärkehaltigen Pflanzentheilen zu finden; Krauch[11]) z. B. vermisste sie in Zwiebeln und den Vegetationsorganen der Birke ganz und fand sie in der Rosskastanie nur im Holz. Besonders energisch hat Wortmann[12]) den Gedanken bekämpft, dass die gesammte Stärkeumsetzung in der Pflanze auf die Thätigkeit von ungeformten Fermenten zurückzuführen sei. Er schwächte die Bedeutung ihrer Anwesenheit dadurch ab, dass er ihr Vorhandensein erstens in Organen nachwies, die keine Stärke führen, wo sie also seiner Meinung nach functionslos sein müssen; namentlich aber führte er dagegen ins Feld, dass er sie dort, wo besonders lebhafte Stärkeumsetzungen stattfinden, vermisste,

---

1) Payen und Persoz, Ann. d. chim. et phys. 53. 73. **56**. 337. **60**. 441.

2) v. Gorup-Besanez, Chem. B. VII. 1478. VIII. 1510.

3) Kjeldahl, Resum. d. Labor. Carlsberg. I. 1879. cit. n. Brown und Morris, Journ. chem. Soc. **57**. 505.

4) Erlenmeyer, Münch. Acad. Sitzb. 1874. II. 204.

5) Hansen, Arb. bot. Inst. Würzb. III. 271.

6) Baranetzki, Die stärkeumbild. Fermente. Leipzig 1878.

7) Mulder, Chemie des Bieres übers. v. Grimm. Leipzig 1858. S. 226.

8) Brasse, C. R. **99**. 878.

9) Gonnermann, Chemiker-Ztg. **1895**. 1806.

10) Detmer, Landwirthsch. Jahrbücher. X. 757 (1881).

11) Krauch, Landwirthsch. Versuchstat. **23**. 77.

12) Wortmann, Botan. Zeitg. **48**. No. 37 ff.

also namentlich in grünen Blättern, in denen er im Gegensatz zu Baranetzki und Brasse wenig oder gar keine Diastase finden konnte. Dieser Theil seiner Beweisführung wurde indessen von Brown und Morris[1]) widerlegt, die in einer sehr gründlichen Arbeit das Vorhandensein diastatischer Fermente in grünen Blättern nachwiesen.

Immerhin ist damit der Nachweis, dass es wirklich nur das Enzym Diastase ist, das überall die Stärkelösung bewirkt, nicht geführt. Experimentell widerlegen kann man also Wortmann's Ansicht, dass ein sehr wesentlicher Theil der Stärkeauflösung direct durch die lebende Pflanzenzelle bewirkt wird, dadurch nicht. Wortmann nimmt an, dass im Allgemeinen die Zelle selbst diese Function erfüllt, und dass die Enzyme nur abgesondert werden, um die der Zelle nicht direct zugänglichen Stärkemengen aufzulösen; er hält auch dieses Enzym noch für nicht völlig leblos, sondern glaubt, dass es noch mit einem „Rest“ von vitaler, dem lebenden Protoplasma entstammender Energie begabt ist. Wir haben im allgemeinen Theil dieser Anschauung bereits gedacht, und gezeigt, dass sie viel zu unklar ist, um als ein heuristisches Princip zur Erklärung der Enzymwirkungen zu dienen.

Nach Brown und Morris[2]) hätte man drei verschiedene Diastasen in den Pflanzen anzunehmen, die in ihrer Wirkung und ihrer physiologischen Bedeutung differiren, nämlich die Secretionsdiastase, die Translocationsdiastase und die Cytase. Grüss[3]) bestätigt diese Angaben theilweise, lehnt sie aber in anderen Punkten ab. Eine dieser drei Diastasen soll auch zellwandlösend wirken (s. b. Cytase). Die Secretionsdiastase ist diejenige der keimenden Samen, während die Translocationsdiastase die der ruhenden Samen und der anderen Organe der Pflanze ist. Sie unterscheiden sich dadurch, dass die Translocationsdiastase nicht im Stande ist, rohe Stärkekörner zu lösen, was die Secretionsdiastase thut.

Secretion der Diastase in den Pflanzen: Für die Vorstellung, dass die Diastase nicht diffus in den pflanzlichen Organen sich bildet, sondern ein wirkliches Secretionsproduct ist, hat Haberlandt[4]) den Beweis geliefert. In Bestätigung der Angaben von Tangl[5]) u. A. weist er nach, dass die Kleberschicht des Endosperms der Gramineen stets Diastase abscheidet. Aimé Girard[6]) hatte ebenfalls nachge-

1) Brown und Morris, Journ. Chem. Soc. 63. (604). (1893). dort die gesammte Litteratur über Diastase in Blättern.

2) Brown und Morris, Journ. chem. Soc. 57. 507 (1890).

3) Grüss, Jahrb. wissensch. Bot. 26. 379.

4) Haberlandt, Ber. d. d. botan. Ges. VIII. 40.

5) Tangl, Sitzb. Wien. Acad. Math. Naturw. Cl. 92. S. 72.

6) Aimé Girard, Ann. d. Phys. et Chim. (6). III. 289 (1884).

wiesen, dass nur in den äusseren Schichten der Getreidekörner Diastase producirt wird, nicht aber in den Kernschichten, wo die Stärke abgelagert ist. Ferment und Substrat sind also getrennt, eine Thatsache, die wir auch beim Emulsin etc. wiederfinden werden. Haberlandt fand sie in den Zellen des Endosperms und hält es für sicher, dass diese Zellen nicht zu dem Speichersystem der Pflanze gehören, sondern ein echtes Drüsengewebe darstellen, dessen specifische Function es ist, Diastase zu produciren und zu secerniren, wie es die Speicheldrüsen der Thiere thun, und das in den Pepsindrüsen der insectivoren Pflanzen, den emulsinbildenden Zellgruppen der Blätter von Laurocerasus etc., sein Analogon in dem übrigen Pflanzenreich hat.

Brown und Morris[1]) konnten seine Schlüsse nicht völlig bestätigen; sie zeigten, dass beim Gerstenkeimling die Diastase von dem Absorptivepithel des Scutellums abgesondert würde, und dass ein Embryo, den man dieses Epithels beraubt hat, nicht mehr die Fähigkeit besitzt, nach seiner Herausnahme Stärke auzugreifen, wie dies der unverletzte Embryo thut.

Ueber die mikroskopisch wahrnehmbaren Veränderungen, welche die Stärke innerhalb der Pflanze unter dem Einfluss der Diastase erleidet, sind genaue Untersuchungen besonders von Krabbe,[2]) A. Meyer[3]) und Grüss[4]) angestellt worden, auf die ich hier nicht genauer eingehen kann.

Die Diastase scheint in den höheren Pflanzen meist als Zymogen vorzukommen, da sehr häufig frische Wasserextracte unwirksam sind, beim Stehen aber oder Ansäuern wirksamer werden (Baranetzky,[5]) Brown und Morris,[6]) Reychler)[7]). Frankhause[8]) wies die Bildung von Ameisensäure bei der Keimung der Gerste nach, die wohl eine gewisse Wichtigkeit für die Enzymwirkung besitzt.

Diastase in Kryptogamen: Sacharificirende Fermente in Kryptogamen (Algen, Pilzen etc.) hat wohl zuerst Kosmann[9]) gefunden.

---

1) Brown und Morris, Journ. chem. Soc. 57. S. 493 (1890).
2) Krabbe, Jahrb. f. wissensch. Bot. XXI.
3) A. Meyer, Unters. üb. d. Stärkekörner cit. n. Grüss.
4) Grüss, l. c. und Festschrift f. Schwendener. Berlin 1899. S. 184.
5) Baranetzky, l. c.
6) Brown und Morris, a. d. a. O.
7) Reychler, Chem. B. 22. 414 (1889).
8) Frankhause, Der Bund. Bern 37. No. 26 cit. n. Green, Ann. of bot. VII.
9) Kosmann, Bull. soc. chim. 27 (1877). 251.

Duclaux[1]) fand Diastase in Pilzen (Aspergillus niger). Wortmann[2]) in der Lohblüthe (Fuligo septica).

Auch die holzzerstörenden Pilze (z. B. Trametes radiciperda Hartig) scheinen diastatische Fermente zu bilden.[3])

Später hat besonders Bourquelot[4]) die Pilze in zahlreichen Arbeiten systematisch auf Fermente untersucht und dabei auch weit verbreitet Diastase gefunden. Besondere Wichtigkeit für die Technik hat das Vorkommen diastatischer Fermente in Hefeinfusen. Hefe enthält alle die Fermente, die Stärke in Glucose umwandeln, so dass sie indirect befähigt ist, Stärke zu vergähren, wenn auch die Diastase nur in geringer Menge darin enthalten ist.

Auch Mucorarten enthalten Diastase, so dass sie Stärke und auch Dextrine direct vergähren können (Gayon und Dubourg),[5]) desgleichen Actinomyces (Fermi).[6])

Eine eigenartige Symbiose von diastaseproducirenden Schimmelpilzen mit alkoholbildenden Sacharomyceten findet sich in den Hefen, welche bei den ostasiatischen Culturvölkern zur Erzeugung alkoholischer Getränke, besonders aus Reis, benutzt werden.

Am bekanntesten ist die Kojihefe, die das Sake, den japanischen Reiswein, liefert. Sie enthält einen Pilz, den Aspergillus Oryzae, der ein diastatisches Ferment, die Takadiastase, liefert, indessen nach neueren Arbeiten nicht auch für die Alkoholbildung verantwortlich zu machen ist (s. b. alkoh. Gährg.). Die Takadiastase ist zuerst von Atkinson[7]) beschrieben, dann von Kellner, Mori und Nagaoka[8]) und Büsgen[9]) näher untersucht worden. Wróblewski[10]) hat ihre Reindarstellung versucht, doch ist seiner vorläufigen Mittheilung eine weitere bis jetzt noch nicht gefolgt. Sie wirkt nach Untersuchungen von Stone und Wright,[11]) sowie von Takamine[12]) sehr viel energischer auf Stärke als Malzdiastase. Sie ist auch nicht so empfindlich

1) Duclaux, Chim. biolog. S. 142 u. 164. cit. n. Bourquelot, Bull. soc. mycolog. de France. IX. S. 230. S. A.

2) Wortmann, Z. phys. Ch. VI. 324.

3) s. Hartig, Die Zersetzungserschein. d. Holzes. Berlin 1878. S. 23.

4) Bourquelot, Bull. soc. mycol. d. France. IX. 230. X. 235.

5) Gayon und Dubourg, Ann. Past. I. (1886). 532.

6) Fermi, C. f. Bact. XII. 713.

7) Atkinson, Monit. scientif. 1882. 7.

8) Kellner, Mori und Nagaoka, Z. phys. Ch. XIV. 297.

9) Büsgen, Ber. d. d. bot. Ges. III. S. LXVI (1885).

10) Wróblewski, Chem. B. 31. 1132 (1898).

11) Stone und Wright, Journ. of the americ. chem. soc. XX. 637. Maly's Jb. 1899. 720.

12) Takamine, Maly's Jb. 1899. 721.

gegen Salzsäure wie Malz- und Speicheldiastase und wird deshalb bei gewissen Krankheiten als Ersatz für mangelhafte Speichelsecretion verordnet (Leo).[1] Milchsäure dagegen wirkt stark hemmend.

Ganz ähnliche Verhältnisse finden wir bei der tonkinesischen Hefe, die von Calmette[2] und Sanguinetti[3] untersucht worden ist. Es findet sich dort ein den Mucorarten mindestens sehr nahestehender Schimmelpilz, der Amylomyces Rouxii, der reichlich Diastase erzeugt, neben einigen dem S. pastorianus ähnlichen Sacharomyceten, die alkoholische Gährung bewirken. Die Amylomycesdiastase ist nach Sanguinetti schwächer als die Takadiastase.

Auch aus Bacterien hat man diastatische Fermente isoliren können, z. B. aus Choleravibrionen (Bitter,[4] Wood,[5] Bacillus mesentericus vulgatus (Vignal).[6] Wortmann[7] erhielt es vor allem aus Bacterium termo, als in Wasser löslich, durch Alkohol fällbar; ferner producirt Diastase der bacille amylozyme von Perdrix.[8]

Die Fähigkeit, Stärke zu lösen, haben wohl fast alle Microorganismen,[9] und es ist von Fermi[10] der definitive Nachweis geführt worden, dass hier nicht vitale, sondern enzymatische Vorgänge vorliegen.

---

1) Leo, Therapeut. Monatsh. X. 635.
2) Calmette, Ann. Inst. Past. VI. 604 (1892).
3) Sanguinetti, Ann. Inst. Past. XI. 264 (1897).
4) Bitter, Arch. f. Hygiene. V.
5) Wood, Labor. Rep. Royal. Coll. Phys. Edinburgh II. cit. n. Green, Annals of Bot. VII. 120.
6) Vignal, desgl.
7) Wortmann, Z. ph. Ch. VI. 287 (1882).
8) Perdrix, Ann. Inst. Past. V. 287 (1891).
9) s. u. a. Pick, Wiener klin. Woch. 1889. 89.
10) Fermi, Arch. f. Hygiene. X. 1. C. f. Bact. XII. 713.

Fünfzehntes Capitel.

Diastatische Fermente im Thierkörper.

Diastatische Fermente spielen auch bei der thierischen Verdauung eine grosse Rolle, indem sie die unlösliche, nicht resorbirbare Stärke und das Reserveglycogen in lösliche, verwerthbare Zucker überführen. Sie finden sich besonders im Speichel, im Darmsaft, der Leber und dem Pancreas.

Es sind echte Enzyme. Nur Goldschmidt[1]) giebt der Annahme Raum, dass die diastatische Kraft des Speichels auch auf geformten Fermenten beruhen könne und fand einen aus der Luft stammenden Schimmelpilz, dessen diastatische Kraft die des Speichels unterstützen soll. Die Mundpilze selbst wirken gerade meist nicht sacharificirend (Miller).[2])

Das diastatische Ferment des Mundspeichels: Der organische Antheil des Mundspeichels wurde von Berzelius[2]) mit dem Namen Ptyalin belegt; späterhin ging dieser Name auf das diastatische Ferment des Speichels über.

Die Fähigkeit des Mundspeichels, Stärke zu lösen und in reducirende Zucker überzuführen, wurde von Leuchs[3]) entdeckt und bald darauf von Schwann[4]) näher untersucht. Mialhe[5]) fällte das wirksame Princip mit Alkohol. Cohnheim[6]) riss es nach der Brücke'schen Methode (s. Pepsin) durch phosphorsauren Kalk aus der Lösung mit, löste es in Wasser und fällte mit Alkohol.

1) Goldschmidt, Z. ph. Ch. X. 294. (—) 1886.

2) Citirt nach Schlesinger, Virch. A. 125. 146. dort umfassende Litteraturübersicht über den Mundspeichel überhaupt.

3) Leuchs, Kastner's Archiv f. d. ges. Naturlehre 1831. cit. n. Schlesinger, l. c.

4) Schwann, Poggendorff's Ann. 38. 359.

5) Mialhe, Compt. rend. XX. 954.

6) Cohnheim, Virch. A. 28. 241 (1865).

Die Speicheldiastase liefert genau dieselben Abbauproducte wie die pflanzliche Diastase. Auch hier nahm man zunächst die Entstehung von Glucose an, bis durch die Arbeiten von Seegen[1]) und Nasse[2]) der Zucker als von der Glucose verschieden erkannt wurde. Nasse nannte ihn Ptyalose und hielt ihn für verschieden von Maltose. v. Mering und Musculus[3]) stellten dann aber die Maltose aus dem Reactionsproduct dar, die neben Dextrin zunächst ausschliesslich entsteht,[4]) desgleichen Külz[5]) aus Glycogen durch Mundspeichel. Sie fanden auch Isomaltose.[6])

Allerdings entsteht durch Speicheleinwirkung aus der Maltose weiterhin auch Glucose, da der Speichel auch Maltase enthält (s. d.), Invertase dagegen fehlt ihm.

Die Speicheldiastase scheint nicht völlig mit der Malzdiastase identisch zu sein, worauf wohl zuerst Dufresne[7]) aufmerksam gemacht hat.

Der Unterschied soll einerseits in der „Tötungstemperatur" liegen, indem sie schon bei 65°—70°, nach Bourquelot[8]) sogar schon von 58° ab, unwirksam wird, also wesentlich empfindlicher als die Malzdiastase ist, doch hängt nach Biernacki[9]) dieser Punkt sehr von dem Verdünnungsgrade ab. Ferner soll sie gegen Salicylsäure von einer Concentration unter 1 Proc. unempfindlich sein, während Malzdiastase schon in 0,05%iger Lösung der Säure unwirksam wird (Müller).[10])

Schliesslich sollen Neutralsalze anders auf sie einwirken (Nasse).[11])

Andererseits bestreitet Pugliese[12]) überhaupt den Unterschied beider Diastasen: ihre Eigenschaften werden so stark von Beimengungen beeinflusst, dass den gefundenen Differenzen kein grosser Werth beizumessen wäre.

Durch schwache Säuren wird die Wirksamkeit der Diastase

---

1) Seegen, Centralbl. med. Wiss. 1876. 849.
2) Nasse, Pflüg. A. XIV. 477.
3) Musculus und v. Mering, Z. ph. Ch. II. 403.
4) v. Mering, Z. ph. Ch. V. 185 (1881).
5) Külz, Pflüg. A. XXIV. S. 81.
6) s. a. Hamburger, Pflüg. A. **60**. 545.
7) Dufresne, Compt. rend. **89**. 1070.
8) Bourquelot, Compt. rend. **104**. 71.
9) Biernacki, Z. f. Biol. **28**. 49.
10) Müller, J. pract. Ch. N. F. X. 444.
11) Nasse, Pflüg. A. XI. 156 (1875).
12) Pugliese, Pflüg. A. **69**. 115 (Litteratur).

begünstigt[1]) (Schierbeck),[2]) durch Salzsäure von der Concentration des Magensaftes unwirksam gemacht (Kübel).[3])

Es schliesst sich hieran die wichtige Frage, ob die diastatische Wirkung des Speichels auf die Mundhöhle beschränkt ist, oder noch im Magen fortdauere (Aeltere Litteratur darüber s. b. Schlesinger).[1]) Es scheint, als ob sie eine gewisse Zeit lang erhalten bleibt (Kübel);[3]) nach Richet[4]) wirkt sie sogar im Magen energischer als im Mund, schliesslich wird sie indessen sicher aufgehoben (Langley).[5])

Auch Einleiten von Kohlendioxyd in neutraler Lösung wirkt schädigend (Ebstein und Schulze),[6]) entgegen den Angaben von Detmer[7]) und Nasse,[8]) die für CO_2 Beschleunigung fanden, während andere Gase gleichgiltig waren.

Alkalische Lösungen, auch kohlensaures Natron (Chittenden und Ely)[9]) wirken hemmend (Kübel);[10]) wenn man in alkalische Lösungen Kohlendioxyd einleitet, so hebt dies die schädigende Wirkung zum Theil wieder auf. Die Diastase wird also durch Alkali nicht zerstört, sondern nur gebunden und inactivirt (Ebstein und Schulze).[11])

Neutralsalze wirken meist fördernd, besonders Kochsalz bis zu einer gewissen Concentration, die von der Concentration des Stärkekleisters abhängt (Kübel).[10]) Magnesiumsulfat und Sublimat hemmen sehr stark, Brechweinstein fördert bei gleicher Concentration (Chittenden und Painter).[12]) Arsenige Säure ist ohne Wirkung (Schäffer und Böhm),[13]) Peptone wirken fördernd (Chittenden und Ely),[9]) Alkaloïde nach beiden Richtungen hin (Nasse),[14]) Antipyrin ist ohne Wirkung. Paraldehyd hemmt beträchtlich, Thallinsulfat wirkt in sehr schwachen Dosen fördernd, in 1 % iger Lösung schon schädlich (Chittenden und Stewart).[15])

---

1) Siehe indessen dazu b. Schlesinger, Virch. A. 125. S. 167.

2) Schierbeck, Scand. Arch. f. Phys. III. 344. s. a. Chittenden und Griswold, Americ. Chem. Journ. III. 205 (1882).

3) Kübel, Pflüg. A. 76. 276.

4) Richet, Journ. de l'anat. et phys. XIV. 285.

5) Langley, Journ. of phys. III. 246.

6) Ebstein und Schulze, Virch. A. 134. 475.

7) Detmer, Z. ph. Ch. VII. 1 (1882).

8) Nasse, Pflüg. A. XV. 477. (—) 1877.

9) Chittenden und Ely, Journ. of phys. III. 327.

10) Kübel, l. c. (Litteratur).

11) Ebstein und Schulze, l. c.

12) Cit. n. Schlesinger, Virch. A. 125. 170.

13) Schäffer und Böhm, Würzb. Phys. med. Soc. N. F. III. 238.

14) Nasse, Pflüg. A. XI. 145 (1875).

15) Chittenden und Stewart, Maly's Jb. XX. 248 (1890).

Alkohol hemmt die Fermentation (Watson);[1]) auch Thymol (Schlesinger),[2]) Salicylsäure über 1 Proc. (Müller),[3]) Chloroform, aber nicht Toluol (Pugliese).[4])

Die beste Temperatur ist ca. 45°; über die Tötungstemperatur s. o. Eine Temperatur von — 20° schädigt das Enzym nicht (Paschutin).[5])

Wirkungsweise der Speicheldiastase: Die Producte der diastatischen Wirkung auf Stärke sind die gewöhnlichen: Maltose und Dextrine (s. das Weitere oben bei der Besprechung der Diastase im Allgemeinen).

Während Stärkekleister der verschiedensten Stärkearten gleichzeitig von Speichel angegriffen wurde, fand Hammarstén,[6]) dass die rohen Stärkekörnchen von Speichel sehr verschieden energisch gelöst wurden, und zwar Kartoffelstärke weitaus langsamer als Maisstärke; die anderen Stärkearten zeigten Zwischenwerthe. Fein pulverisirte Kartoffelstärke dagegen wurde schnell gelöst, desgl. gekaute. Unversehrte Stärkekörnchen werden nach Bourquelot[7]) überhaupt nicht angegriffen, da das Speichelferment die cellulosehaltige Wandschicht der Körnchen nicht durchdringen kann. Doch behauptet Brasse,[8]) dass Diastase auch rohe Stärke angreift.

Solera[9]) hat ebenfalls verschiedene Stärkesorten im Verhalten zum Speichelferment geprüft. Er fand, dass sowohl die Gewichtsverhältnisse zwischen angewandter Stärke und erhaltenem Zucker schwankend sind, als auch die Zeiten, in der gleiche Zuckermengen entstehen; und constatirte, dass die sich schnell zersetzenden Stärkesorten durchaus nicht nothwendig auch den meisten Zucker liefern müssen, dass im Gegentheil die Kartoffelstärke bei grösster Schnelligkeit die geringste Zuckermenge liefert. Andere quantitative Untersuchungen sind u. A. von Lea[10]) und Kübel[11]) angestellt.

Die mehr oder minder energische Einwirkung hängt von der relativen Menge des Fermentes ab.

---

1) Watson, Journ. chem. soc. 35. 539 (1879).
2) Schlesinger, Virch. A. 125. 340.
3) Müller, J. pract. Ch. N. F. X. 444.
4) Pugliese, Pflüg. A. 69. 115.
5) Paschutin, Müller-Reichert's Arch. 1871.
6) Hammarstén, Virchow-Hirsch Jb. 1871. S. 95.
7) Bourquelot, C. R. 104. 71.
8) Brasse, C. R. 100. 454.
9) Solera, Maly's Jb. 1878. 235.
10) Lea, Journal of physiol. XI. 234 ((1890).
11) Kübel, Pflüg. A. 76. 276.

Die Diastase kann nach Paschutin[1]) nicht unbegrenzte Mengen Stärke verzuckern.

Bei relativ wenig Ferment entstehen vorwiegend die höheren Producte, Dextrine (Grützner).[2])

Aehnlich wirkt relativ hohe Temperatur.

Die durch Wärme abgeschwächte Diastase hat nach Bourquelot[3]) nicht die Eigenschaft eingebüsst, die ersten Umwandlungen der Stärke (s. o.) zu bewirken, die sich vielmehr mit gleicher Schnelligkeit vollziehen. Dagegen ist die weitere Einwirkung völlig aufgehoben, so dass keine typischen Endproducte entstehen.

Bei menschlichen Neugeborenen soll das Speichelferment nur in der Parotis und auch dort sehr spärlich vorhanden sein (Bidder und Schmidt).[4]) Zweifel[5]) und Korowin[6]) fanden indessen regelmässig eine diastatische Wirksamkeit der frisch herausgenommenen Parotis.

Pathologischer Speichel ist auf seinen Fermentgehalt von Zweifel[5]) untersucht worden. Bei Soor scheint das Ferment zu fehlen. Bei einer Angina catarrhalis erwies es sich normal (Salkowski).[7])

Der Speichel enthält nicht bei allen Thieren diastatisches Ferment. Man findet es beim Menschen und Herbivoren (Grützner).[8]) Es fehlt ferner in der Gland. submaxillaris, z. B. der Kaninchen (Schiff,[9]) Grützner,[10]) Langley).[11]) Am stärksten soll der gemischte Speichel der Nager (Ratte) wirken, dann der der Carnivoren; bei Schaf und Ziege am schwächsten (Astaschewski).[12]) Sehr kräftig wirkt auch der des Pferdes (Ellenberger und Hofmeister).[13]) Krukenberg[14]) fand es bei Fischen im Speichel und der Mundschleimhaut weit verbreitet.

1) Paschutin, Centr. med. Wiss. 1871. 273.
2) Grützner, Pflüg. A. XII. (1876).
3) Bourquelot, C. R. 104. 576.
4) Bidder und Schmidt, Verdauungssäfte. 1852. S. 23.
5) Zweifel, Unters. üb. den Verdauungs-App. der Neug. Berlin 1874.
6) Korowin, Centralbl. med. Wiss. 1873. 261. 305.
7) Salkowski, Virch. A. 109. 358 (1887).
8) Grützner, Pflüg. A. XII. 285.
9) Schiff, Leç. d. l. phys. de la digestion. (1867). I. 204.
10) Grützner, Pflüg. A. XVI. 105.
11) Langley, Journ. of Physiol. I. 68.
12) Astaschewski, Centralbl. med. Wiss. 1877. 531.
13) *Ellenberger und Hofmeister, Arch. f. wiss. u. pract. Thierheilkunde. XII. 265 (1881).
14) Krukenberg, Unters. physiol. Inst. Heidelb. II. 41. 389.

Die Pancreasdiastase (Amylopsin):[1]) Die diastatische Wirkung des Bauchpeichels wurde von Bouchardat und Sandras[2]) entdeckt. Sie ist sowohl in dem Secret, als in dem Infus der Drüse nachzuweisen.

Die Pancreasdiastase ist identisch oder sehr ähnlich dem Speichelferment (Hammarstén).[3])

Wirksame Extracte werden nach denselben Methoden hergestellt, wie man das proteolytische Pancreasferment herstellt (s. b. Trypsin). Sie enthalten natürlich auch die anderen Fermente. Danilewski[4]) versuchte mit Hilfe von Collodiumfällung ein nur diastatisch wirkendes Ferment zu erhalten; Cohnheim[5]) nach derselben Methode wie beim Speichelferment, v. Wittich[6]) mit wasserfreiem Glycerin, das Trypsin nicht löst, nach vorheriger Behandlung mit Alkohol. Glycerinextracte wandte auch Nasse[7]) an.

Paschutin[8]) giebt an, dass man mit Hilfe von saurem arsensauren Kalium fast ausschliesslich das diastatische Ferment aus dem Pancreas isoliren kann, während andere Salzlösungen alle Fermente extrahiren. Aus permanenten Fisteln erhält man häufig einen nur diastatisch wirksamen Saft.[9])

Die entstehenden Producte sind dieselben wie bei den anderen Diastasen,[10]) auch Glucose wird gebildet, was auf die Anwesenheit von Maltase zurückzuführen ist.

Nach Nasse[11]) ist sie von der Diastase des Malzes und des Speichels dadurch unterschieden, dass sie von Neutralsalzen anders beeinflusst wird.

Ihre Wirksamkeit wird ebenfalls bei ca. 65° aufgehoben.

Quantitativ hat ihre Wirksamkeit u. A. Roberts[12]) untersucht.

Grützner[13]) fand, dass die diastatische Wirksamkeit des Pancreas am schwächsten 6 Stunden, am kräftigsten 14 Stunden nach der Mahl-

---

1) Wingrave, Lancet. 1898. I. 1251.
2) Bouchardat und Sandras, C. R. XX. (1845). 143. 1085.
3) Hammarstén, Lehrb. phys. Ch. 1895. 262.
4) Danilewski, Virch. A. XXV. 279.
5) Cohnheim, Virch. A. 28. 251.
6) v. Wittich, Pflüg. A. II. 196.
7) Nasse, Pflüg. A. XIV. 473 (1877).
8) Paschutin, Müller-Reichert's Arch. 1873. 382.
9) Gamgee, l. c. S. 221.
10) v. Mering und Musculus, Z. ph. Ch. II. S. 411. Hamburger, Pflüg. A. 60. 560.
11) Nasse, Pflüg. A. XI. 156.
12) Roberts, Proceed. Royal Soc. 32. 145.
13) Grützner, Pflüg. A. XII. 292.

zeit ist. Nach seinen Versuchen hindert Chlornatrium erst bei hoher Concentration, 6 Proc., die Diastasewirkung, kohlensaures Natron dagegen schon in 0,05 %iger Lösung. Die stark hemmende Wirkung des letzteren Salzes wird von Gans[1]) bestätigt. Bei Neugebornen soll die Pancreasdiastase fehlen (Korowin).[2])

Nach Versuchen von Roberts[3]) und Floresco[4]) ist das Pancreas des Schweines diastatisch am wirksamsten; während das vom Ochsen, Schafe und Hunde viel schwächer wirkt. Nach Hamburger[5]) wirkt das des Hundes stärker als das des Rindes.

In neuerer Zeit behaupten wieder Chlodounski und Šulc,[6]) dass Stärke bei Pancreaseinwirkung zum grossen Theil unverändert bleibt, dass ferner Dextrine und Glucose, keine Maltose entsteht.

Diastasezymogen: Während es für das Pepsin und Trypsin (s. d.) sichergestellt ist, dass nicht die activen Fermente selbst, sondern eine Vorstufe, ein Zymogen, in den Drüsenzellen enthalten ist, ist diese Annahme für die Pancreasdiastase noch nicht bewiesen, obwohl wahrscheinlich.

Liversidge[7]) entfernte zunächst das diastatische Enzym aus dem Pancreas; dann setzte er den Rückstand der Luft aus: Ein neuer Infus zeigte wieder starke diastatische Wirkung. Wenn also ein Zymogen existirt, muss es wasserunlöslich sein, da in wässrigen Lösungen eine Zunahme der Wirksamkeit durch irgend welche Agentien, wie bei anderen Zymogenen, nicht beobachtet werden kann.

Nach eigentümlichen Beobachtungen, die Goldschmidt[8]) am Parotidenspeichel des Pferdes gemacht hat, ist auch für diesen die Existenz eines Zymogens nicht von der Hand zu weisen, das durch Einfluss der Luft wirksam wird.

Das diastatische Ferment des Dünndarms: Während man früher annahm, dass die Dünndarmschleimhaut kein diastatisches Ferment enthielte (z. B. Thiry, Leube, Lehmann),[9]) ist heute mit Sicherheit nachgewiesen, dass thatsächlich eine Spaltung der Stärke

---

1) Gans, Verh. Congr. innere Med. 1896. 449.
2) Korowin, Centralbl. med. Wiss. 1873. 261. 305.
3) Roberts, Lumleian Lecture cit. n. Gamgee l. c. S. 220.
4) Floresco, C. R. soc. biol. 1896. 77.
5) Hamburger, Pflüg. A. 60. 557.
6) Chlodounski und Šulc, Sitzb. d. k. böhm. Acad. d. Wiss. 1896 (böhmisch). Maly's Jb. 1896. 67.
7) Liversidge, Journ. of anat. and physiol. VIII. S. 23 (1874).
8) Goldschmidt, Z. ph. Ch. X. 273.
9) cit. n. Röhmann, Pflüg. A. 41. 424 (dort ältere Litt.).

im Darmsaft stattfindet (Gumilewski,[1]) Lannois und Lépine,[2]) Eichhorst,[3]) Paschutin,[4]) Dobroslawin)[5]). Brown und Heron,[6]) Bastianelli,[7]) Tebb[8]) u. A. wiesen Maltose als Product dieser Spaltung nach. Hamburger[9]) schreibt dem Darmsaft sehr geringe diastatische Kraft zu; er fand fast nur Glucose, ebenso Pregl,[10]) die aber sicher erst secundär aus der Maltose entsteht (s. b. Maltase). Röhmann[11]) fand, wie Lannois und Lépine, dass der obere Theil des Dünndarms viel energischer wirkt als der untere. Es wirkt sowohl der Darmsaft selbst, als auch die getrocknete Schleimhaut oder Glycerinextracte daraus. Dagegen sollen nach Grützner[12]) die Brunnerschen Drüsen keine Diastase enthalten. Grünert[13]) fand Diastase und Invertase im Darm.

Im Darm des Flusskrebses fand Hoppe-Seyler[14]) ein diastatisches Ferment, in dem der Bienen Erlenmeyer,[15]) in dem „Leber"-secret der Schnecken Krukenberg[16]) u. A.[17]).

Die Leberdiastase: Dass die Leber ein stärkeähnliches Kohlehydrat, das Glycogen, enthält, das sie aus dem Traubenzucker des Blutes aufbaut, und dass dieser Stoff nach dem Tode und wohl auch intra vitam leicht in Zucker übergeht, ist besonders durch die Arbeiten von Claude Bernard[18]) bekannt geworden.

Das Glycogen ist der Stärke ähnlich, soll aber noch complizirter gebaut sein.[19])

Es geht sowohl bei der Säurespaltung, als auch durch Diastase

1) Gumilewski, Pflüg. A. 39. 564.
2) Lannois und Lépine, Arch. d. phys. 1883. S. 92.
3) Eichhorst, Pflüg. A. IV. S. 584.
4) Paschutin, Müller-Reichert's Arch. 1871.
5) Dobroslawin, Unters. Anat. Phys. Inst. Graz 1870. S. 68.
6) Brown und Heron, Lieb. Ann. 204. 228.
7) *Bastianelli, Moleschott's Untersuch. 1892. 138.
8) Tebb, Journ. of physiol. XV. 421 (1893).
9) Hamburger, Pflüg. A. 60. 560.
10) Pregl, Pflüg. A. 61. 388.
11) Röhmann, Pflüg. A. 41. 424.
12) Grützner, Pflüg. A. XII. 285.
13) Grünert, Centralbl. f. Physiol. V. 285.
14) Hoppe-Seyler, Pflüg. A. XIV. 394.
15) Erlenmeyer, Münch. Acad. Sitzb. Math. Naturw. Cl. 1874. 205.
16) Krukenberg, Unters. physiol. Inst. Heidelberg. II. 75. 411 (1878).
17) s. b. Biedermann und Moritz, Pflüg. A. 73. 247 (1898).
18) Cl. Bernard, C. R. 41 (1855). 85. 519 (1877).
19) Heine, Fortschr. d. Medicin. XIII. 789.

in einfachere Zucker über. Es entsteht dabei Maltose (Külz und Vogel).[1])

So lag es nahe, anzunehmen, dass diese Umwandlung in der Leber auch durch ein diastaseähnliches Ferment bewirkt würde.

v. Wittich[2]) giebt an, dass er durch Glycerinextraction der getrockneten Leber ein diastatisches Ferment erhalten habe, auch aus der völlig entbluteten, so dass er ein eigenes Leberferment annimmt. Er fand es auch in der Galle. Er erhielt diese Extracte niemals ganz zuckerfrei. Seegen und Kratschmer[3]) erzielten durch Glycerin aus blutfrischen Kaninchenlebern zuckerfreie Extracte, die das diastatische Ferment und Glycogen enthielten, das beim Verdünnen mit Wasser in Zucker überging.

Abeles[4]) hat zuerst angegeben, dass das Ferment postmortal entstehe, und dass er aus gekochten Lebern das Ferment ebenfalls erhalten habe; dies wurde von Seegen und Kratschmer[5]) bestätigt, doch die Deutung als postmortales Product abgewiesen, da sie die Fermentation in dem Extract gesottener Lebern auch ohne Berührung mit dem Organ nachweisen konnten. Sie glauben annehmen zu dürfen, dass es einfach die Eiweisskörper an sich sind, die in diesen Extracten diastatische Wirkungen vollziehen, wie es ähnlich ja auch Baranetzki[6]) und Mulder[7]) angenommen hatten. Schwiening[8]) kann sich dieser Meinung nicht anschliessen. Er ist eher geneigt, an eine Bacterienwirkung zu glauben, doch nimmt er auch an, dass das Ferment beim Sieden nicht völlig vernichtet, sondern nur geschwächt würde. Pavy[9]) stimmt sehr energisch dafür, dass die Glycogenspaltung der Leber ein fermentativer Process ist und konnte das Ferment lange conserviren, wenn er die frischen Organe in Alkohol brachte (ein halbes Jahr lang). Dies wird von Tebb[10]) bestätigt. Die ganze Frage ist damit im Dunkeln gelassen und bedarf dringend der Aufklärung.

Mit der Frage nach dem diastatischen Leberferment und

1) Külz und Vogel, Z. f. Biol. 31. 108. s. a. Musculus und v. Mering, Z. phys. Ch. II. 416.

2) v. Wittich, Pflüg. A. VII. 28.

3) Seegen und Kratschmer, Pflüg. A. XIV. 593.

4) Abeles, Med. Jahrbücher. II. Heft. 1876. cit. n. Schwiening.

5) Seegen und Kratschmer, l. c. S. 597.

6) Baranetzki, Die stärkeumbildenden Fermente in d. Pflanzen. Leipzig 1878.

7) Mulder, Chemie des Bieres übers. v. Grimm. Leipzig 1858. 222 ff.

8) Schwiening, Virch. A. 136. 465.

9) Pavy, Journ. of Physiol. XX. S. IV. (Proc. Physiol. Soc. Oxford 1896). XXII. 391 (1898).

10) Tebb, Journ. of physiol. XXII. 427 (1898).

seiner Wirkung hängt nämlich aufs engste die Frage nach der Spaltung des Glycogens während des Lebens zusammen. Es entsteht nämlich hier der Zweifel, ob diese Spaltung auch wie die der Eiweisskörper und Kohlehydrate im Darm eine einfach enzymatische oder aber eine specifisch vitale, nur von der lebenden Zelle ausgeübte ist, und sich nach der Herausnahme des Organs nur noch bis zum allmählichen Erlöschen fortsetzt.

Die Fermenttheorie wird u. A. von Salkowski[1]) und Richet[2]) acceptirt, Cavazzani[3]) und Paton[4]) lehnen sie dagegen ab. Salkowski schliesst daraus, dass frische Leber Glycogen spaltet, wenn das Protoplasma durch Chloroform getötet ist, dass hier ein Ferment wirksam ist. Cavazzani[5]) wendet gegen diesen scheinbar stringenten Beweis ein, dass es sich dabei wohl um die sacharificirende Wirkung des in der Leber enthaltenen Blutes handeln möge. Er hält an der vitalen Anschauung fest und glaubt dafür den Beweis erbracht zu haben. Wenn er nämlich die Leberzellen anstatt mit Chloroform mit Methylviolett lähmte, erhielt er keine sacharificirende Wirkung des frisch herausgenommenen Organs. Ebenso soll Chinin, das auf Fermente keine Wirkung hat, die sacharificirende Kraft der Leber erheblich herabsetzen, auch die Leber chininvergifteter Hunde sehr wenig Glucose enthalten, wie Cavazzani[5]) in seiner letzten Arbeit angiebt, in der er an seinem Widerspruch gegen die Fermenttheorie stricte festhält. Auch Eves[6]) hält die Zuckerspaltung der Leber nicht für enzymatisch. Da indessen überall im Körper diastatische Fermente vorkommen, so ist es nicht von so grosser Wichtigkeit, ob diese Glycogenspaltung ein wenig mehr oder minder fest an die lebende Zelle gebunden ist. Theoretisch betrachtet, ist es jedenfalls ein Fermentprocess.

Vorkommen in sonstigen thierischen Organen und Secreten: In den meisten Organen des Körpers hat man, besonders v. Wittich[7]) und Lépine[8]) diastatische Fermente nachweisen können. Beim Pferde fanden Ellenberger und Hofmeister[9]) weite Verbreitung. Im Kropf,

1) Salkowski, Pflüg. A. **56**. 339.
2) Richet, C. R. soc. biol. 1894. 525.
3) Cavazzani, Arch. ital. d. Biol. **28**. 91 (1898).
4) Paton, Philosoph. Transact. **185**. 277 (1897).
5) Cavazzani, Arch. ital. d. Biol. **32**. 350 (1899).
6) Eves, Journ. of Physiol. V. 342.
7) v. Wittich, Pflüg. A. VII. 28.
8) Lépine, Sächs. Acad. 1870. S 322.
9) Ellenberger und Hofmeister, A. f. wissensch. Thierheilk. VIII.

dem Hoden und der Schilddrüse, auch im Labmagen des Rindes und verschiedener Thiere fanden sie E. Fischer und Niebel,[1]) in der Galle Jacobson,[2]) v. Wittich[3]) u. A., in der Frauenmilch Béchamps,[4]) im Koth v. Jaksch.[5])

Im Blut kommt ein diastatisches Ferment vor, wie schon lange bekannt ist.[6])

Plósz und Tiegel[7]) fanden ein sacharificirendes Ferment, gebunden an die Blutkörperchen und für gewöhnlich unwirksam, das aber durch verschiedene Agentien, z. B. Gefrierenlassen etc. wirksam wird. Bial[8]) dagegen fand die körperlichen Elemente wirkungslos.

Plósz und Tiegel fanden gleichzeitig eine fermentzerstörende Kraft in den Blutkörperchen (vielleicht eine Oxydase?). Sie sind geneigt, die diastatische Wirkung der Leber (s. o.) auf diese Blutdiastase zurückzuführen, die von den Eiweissstoffen der Leberzellen gebunden wird. v. Wittich[9]) leugnet die Bindung an die Blutkörperchen sowohl, wie die Bedeutung für die Leberwirkung. Er erhielt es auch aus Serum. Bial[8]) behauptet, dass im Blut ein besonderes Ferment enthalten sei, das Stärke in Glucose überführt. Er hat also die successive Einwirkung von Diastase und Maltase übersehen. Röhmann[10]) fand Dextrine („Porphyrodextrin" und Achroodextrin), Isomaltose und Glucose. Hamburger[11]) fand auch Maltose.

Bial[8]) giebt ferner an, dass menschliches Blut schwächer diastatisch wirkt; im Blut von Neugeborenen und Thierföten konnte er Diastase höchstens in Spuren constatiren.

Zanier[12]) fand im Pfortaderblut mehr diastatisches Ferment als in anderen Gefässen. Es wurde beim Hungern geschwächt.

Im Serum zahlreicher Thiere fanden E. Fischer und Niebel[13]) Diastase. In der Lymphe Bial[8]) und Röhmann.[14])

---

1) E. Fischer und Niebel, Berl. Acad. 1896. V.
2) Jacobson, De sachari formatione fermentique etc. Diss. Regimonti 1865.
3) v. Wittich, Pflüg. A. III. 341.
4) Béchamps, C. R. 96. 1508.
5) v. Jaksch, Z. phys. Ch. XII.
6) Die ältere Litt. s. b. Bial, Pflüg. A. 52. 137.
7) Plósz und Tiegel, Pflüg. A. VI. 249. VII. 391.
8) Bial, Pflüg. A. 52. 137. 53. 156.
9) v. Wittich, Pflüg. A. VII. 28.
10) Röhmann, Chem. B. 25. 3654. C. med. Wiss. 1893. 849.
11) Hamburger, Pflüg. A. 60. 570.
12) Zanier, Gazeta degli Ospitali 1895. 44. Maly's Jb. 26. 212.
13) Fischer und Niebel, Sitzb. Berl. Acad. 1896. V.
14) Röhmann, Pflüg. A. 52. 157 (ältere Litteratur).

Lépine[1]) giebt an, dass das sacharificirende Ferment des Blutes beim Diabetes vermindert sei, desgleichen bei länger dauernder Asphyxie.

Im normalen Harn fand Béchamps[2]) ein diastatisches Ferment, das er als „matière albuminoide" ansieht und Nephrozymase nennt; es soll aus der Niere stammen; ferner Cohnheim,[3]) Breusing,[4]) Holovtschiner.[5]) Gehrig[6]) fand es in verschiedenen Harnen, im Hundeharn am wenigsten.

Im diabetischen Harn fanden sie Plósz und Tiegel (l. c.); Lépine[7]) fand sie in diesem vermindert.

In pleuritischen Exsudaten fand Eichhorst,[8]) in der Cerebrospinalflüssigkeit (durch Spinalpunction erhalten) Cavazzani[9]) und Grober,[10]) in Ascitesflüssigkeit Breusing,[4]) im Hühnerei Joh. Müller[11]) ein diastatisches Ferment.

Diastatische Fermente und Diabetes: Für die Entstehung des Diabetes mellitus wird den diastatischen Fermenten eine wichtige Rolle zugeschrieben.

Namentlich Lépine und Barral[12]) geben für den Phloridzindiabetes an, dass dabei das sacharificirende Ferment des Blutes vermehrt ist, beim gewöhnlichen Diabetes aber vermindert (s. o.).

Hildebrandt[13]) constatirte zunächst, dass der wässerige Extract von Syzygium Jambolanum in vitro die diastatische Wirkung herabsetzt und untersuchte dann[14]) den Einfluss auf den künstlich durch Reizung des N. depressor am Kaninchen hervorgerufenen Diabetes. Er glaubt, aus seinen Versuchen folgendes schliessen zu können: Syzygium Jambolanum setzt thatsächlich die Zuckerausscheidung herab; da aber sein Einfluss auf die Verwerthung des einmal gebildeten Zuckers sehr gering oder gleich Null anzunehmen ist, so hat man Grund, seine Wirkung auf eine Verminderung der

1) Lépine, Wiener med. Presse. 1892. No. 26 ff. C. R. **113**. 1014. (1891).
2) Béchamps, C. R. **60**. 445 (1865).
3) Cohnheim, V. A. **28**. 251 (1865).
4) Breusing, V. A. **107**. 186 (1887)
5) Holovtschiner, V A. **104**. 42.
6) Gehrig, Pflüg. A. **38**. 35.
7) Lépine, l. c.
8) Eichhorst, Zeitsch. f. klin. Med III. 537 (1881).
9) Cavazzani, C. f. Phys. X. 145.
10) Grober, Münch. med. W. 1900. S. 247.
11) Müller, Münch. med. W. 1899. S. 1583.
12) Lépine und Barral, C. R. **113**. 1014. (—) 1891.
13) Hildebrandt, Berl. klin. W. 1892. No. 1.
14) Hildebrandt, Virch. A. **131**. 26 (1893).

Bildung von Zucker, also eine Schwächung der diastatischen Kraft zurückzuführen.

Ferner fand er, dass Arsen einerseits die Diastasewirkung beeinträchtigt, andererseits nach Saikowski die Zuckerausscheidung nach der Piqûre von Cl. Bernard aufhebt.

Schliesslich fand er, dass Injection von Diastase die Assimilationsgrenze für gleichzeitig eingeführten Traubenzucker herabsetzt.

Gans[1]) hat nachgewiesen, dass in vitro die Glycogenspaltung durch Diastase verlangsamt werden kann, wenn man kohlensaures Natron zusetzt. Er ist geneigt, anzunehmen, dass auf dieser auch im Organismus zu erzielenden Verminderung der Zuckerproduction die klinisch erprobte heilsame Wirkung der Alkalien beim Diabetes beruht. Doch ist diese Anschauung durchaus nicht ohne Weiteres zu acceptiren. Einerseits erklärt Lépine die Vermehrung der Zuckerausscheidung durch die Verminderung der Wirksamkeit des glycolytischen Fermentes (s. d.), während die Zuckerproduction dabei eine secundäre Rolle spielt; andererseits aber nimmt man beim Diabetes eine Herabsetzung der Alkalescenz des Blutes an, und erklärt die heilsame Wirkung der Alkalien durch eine Wiederherstellung dieser normalen Alkalescenz.

Andererseits liegen Versuche vor, die darauf hindeuten, dass man durch Zufuhr von Diastase (intravenös) eine Art von Immunisirung gegen diastatische Fermente erzeugen kann, wodurch bei Diabetikern eine Herabsetzung der Zuckerausscheidung herbeigeführt werden kann (Kussmaul,[2]) Lépine und Barral).[3])

---

1) Gans, Verh. Congr. innere Medicin. 1896. 449.
2) Kussmaul, A. f. klin. Med. XIV. 42 (1874).
3) Lépine und Barral l. c.

Sechzehntes Capitel.

Diastaseähnliche Fermente der Polysacharide.

Das zellwandlösende Enzym (Cellulase, Cytase).

Ausser der Reservestärke enthält das Endosperm vieler Pflanzen auch beträchtliche Mengen von Reservecellulose resp. ähnlicher wandbildender Substanzen. Namentlich bei den Palmen ist die Wandschicht der Zellen so enorm entwickelt, dass ihre Höhle fast verschwunden erscheint. Diese grossen Mengen von Cellulosen lösen sich nun gleich der Stärke bei der Keimung auf. Diesen Auflösungsvorgang sah zuerst Mitscherlich[1]) an Kartoffelscheiben. Sachs[2]) beobachtete Lösung des Endosperms und Auftreten von Zucker. Dieser Vorgang ist dann vielfach weiter studirt worden, wesentlich vom mikroskopisch-histologischen Standpunkt.[3]) Wie Green[4]) ausführt, drängt sich bei dieser Auflösung der Gedanke an ein gelöstes Enzym a priori auf, da aus von ihm angeführten histologischen Gründen es sich schwer vorstellen lässt, in welcher Weise das Protoplasma des Cotyledos direct auf das aufzulösende Material einwirken könnte. Auch Granulabildung in den Zellen des Haustoriums, wozu sich ein Theil des Cotyledos umbildet, scheint auf eine secretorische Thätigkeit hinzudeuten. Dagegen gelang es ihm nicht, in den Auszügen dieser Organe der Palmen irgend welche Enzyme nachweisen zu können.

Dagegen fanden derartige Enzyme Brown und Morris[5]) in keimenden Gerstenkörnern. Sie betrachteten, dass bei diesem

1) Mitscherlich, Berliner Academ. Sitz.-B. Math. Naturw. Cl. 1850. 102.

2) Sachs, Bot. Ztg. 1862. 243.

3) s. Reiss, Landw. Jahrb. von Thiel. XVIII. S. 711 (1889), wo ausführliches Referat.

4) Green, Annals of botany. VII. S. 93 (1893).

5) Brown und Morris, Journ. of the Chem. Soc. 57. S. 497 (1890).

Keimungsprocess die Zellwände früher anfangen sich aufzulösen, als die Stärkekörner ihre Zersetzung durch die Diastase erleiden. Die Epithelzellen des Scutellums erfahren dabei ebenfalls eine granuläre Aenderung, die auf Secretionszustände schliessen lässt, wie dies ja für die Diastase besonders von Haberlandt[1]) gedeutet worden ist. Sie scheinen also nicht nur diastatische, sondern auch cytolytische Enzyme zu secerniren.

Durch Extraction mit kaltem Wasser und Fällen mit Alkohol erhielten sie das Enzym in trockenem Zustande (aber nicht frei von Diastase), das nunmehr, wieder gelöst, im Stande ist, Gerstenendospermzellwände aufzulösen. Der Extract wird beim Kochen unwirksam; bei 60° verliert er seine cytohydrolytische Fähigkeit, ohne die diastatische einzubüssen, die erst bei 70° verloren geht. Das Enzym wirkt am besten in schwach saurer, besonders essigsaurer und ameisensaurer Lösung. Seine chemische Wirksamkeit ist noch sehr ungenügend untersucht, bestimmte Abbauproducte (Zucker?) sind noch nicht dargestellt.

Es wirkt auch auf einige andere Zellwandstoffe, ist bei vielen dagegen wirkungslos, so dass man verschiedene Stoffe in den Zellwänden annehmen muss.

Es bildet sich nur, wenn die Nährstoffe in den Zellen sich vermindern, wie dies ja auch für andere Pflanzenenzyme nachgewiesen ist (z. B. die Invertase bei Aspergillus, s. d.). Auch Beyerinck[2]) nimmt eine enzymatische Lösung der Reservecellulose durch ein besonderes Ferment an. Er beobachtete, dass diese noch vor ihrer Lösung in einen Körper umgewandelt wird, der die blaue Jodreaction giebt.

Newcombe[3]) fand eine besondere „Cytase" in den Keimpflanzen der Dattel, der Gerste und der weissen Lupine, die in Auszügen wirksam waren; sehr schwache Wirkung auch bei Erbse und Buchweizen. Die Zellwände werden erst durchscheinend und schmelzen schliesslich ein. Die einzelnen Extracte verhielten sich gegen Stärke und Cellulose so verschieden, dass man daraus die Existenz mehrerer specifischer Enzyme erschliessen kann. Besonders zeigte es sich, dass die Cytase aus Dattelendosperm zwar stark auf Cellulose, auf Stärke aber viel schwächer als das Enzym aus den Cotyledonen der Dattel wirkt.

Reinitzer[4]) wendet sich andererseits gegen die Annahme einer specifischen „Cytase" speciell bei der Gerste. Brown und Morris

1) s. S. 175.
2) Beyerinck, Centr. Bact. (II.) 1895. 239.
3) Newcombe, Ann. of Bot. XIII. 49. (1899).
4) Reinitzer, Z. phys. Ch. XXIII. 175.

hatten die Unangreifbarkeit vieler Zellwände durch ihr Enzym hauptsächlich durch Verholzung dieser Zellen erklärt; Reinitzer weist nach, dass davon durchaus nicht immer die Rede sein kann. Er führt vielmehr aus, dass die Zellwände der Gerste zum grossen Theil aus sehr leicht hydrolysirbaren Hemicellulosen bestehen, die schon durch 0,1procentige Salzsäure gelöst werden; nur diese kann das Enzym angreifen, während es andere Hemicellulosen gar nicht verändert; während ferner reine Cellulose von Luftmalzauszug nicht tangirt wird, werden diese besonders leicht hydrolysirbaren Hemicellulosen durch Diastase angegriffen, eine Fähigkeit, die allerdings der durch Erwärmen auf 60° geschwächten Diastase nicht mehr in vollem Maasse zukommt. Andere Hemicellulosen sind aber gegen Diastase beständig, und für diese giebt Reinitzer die Möglichkeit eines specifischen Enzyms, einer Cytase, zu, die er aber speciell für die keimende Gerste durchaus nicht anerkennt.

Auch Grüss[1]) vertritt den Standpunkt, dass es Diastase ist, die die Zellwände löst; er hat diesen Vorgang bei der Dattel mikroskopisch beobachtet, indem er feine Schnitte in Glycerin sehr lange liegen liess und die Fäulniss durch Chloroform verhütete. Er nennt die Auflösung „Allöolyse“. Es entstehen dabei lösliche Producte, vermuthlich Mannose.

Auch Malzdiastase, sowie Penicilliumdiastase sollen ähnliche Einwirkung auf die Reservecellulose haben (Grüss).[2])

Dem von Wiesner[3]) in einigen Pflanzen aufgefundenen „Gummiferment“, das Cellulose in Gummi oder Schleim verwandeln soll, ist von Reinitzer[4]) diese Eigenschaft abgesprochen und es für ein einfach diastatisches Ferment erklärt worden.

Ebenfalls viel discutirt ist die Frage nach dem Vorkommen solcher Cytasen in holzzerstörenden Pilzen und ähnlichen Parasiten. Ihre Thätigkeit ist histologisch und chemisch genau untersucht;[5]) aber die Frage nach dem Enzym harrt ihrer definitiven Lösung.

Indessen scheinen Versuche von Kohnstamm[6]) an nach Buchnerschem Verfahren hergestellten Presssäften von Merulius lacrymans, dem Hausschwamm, die Existenz eines echten celluloselösenden

1) Grüss, Ber. d. d. botan. Ges. XII. 1894. Sitzungsberichte S. (60).

2) Grüss, Festschr. f. Schwendener. Berlin 1899. 184.

3) Wiesner, Sitz. Wiener Acad. 92. 1. 40 (1886).

4) Reinitzer, Z. ph. Ch. XIV. 453.

5) s. u. a. Hartig, Die Zersetzungerscheing. des Holzes. Berlin 1878; ferner: Der echte Hausschwamm. Berlin 1885. s. a. Wortmann, Biol. Centralbl. III. 265.

6) Ph. Kohnstamm-(München). Liebenswürdige Privatmittheilung bisher unveröffentlichter Versuche.

Enzymes zur Evidenz erhoben zu haben. Er fand ähnliche Einwirkungen, wie sie Hartig (l. c.) durch den lebenden Pilz beobachtet hatte, nach 50stündiger Einwirkung des Presssaftes auf Blätter von Elodea, nämlich Corrosionen in Form grosser, schmaler, langgestreckter Tüpfel, die die inneren Wände des Blattes leiterförmig quer gestreift und gewellt erscheinen lassen.

Andere Zerstörungsvorgänge sind an anderen Parasiten beobachtet.

De Bary[1]) fand, dass gewisse Peziza-Arten mit ihrem Mycel die Mittellamellen der befallenen Pflanzen durchbrachen und auflösten, dass der ausgepresste Saft dieser erkrankten Pflanzen Cellulose löst, und dass diese Fähigkeit beim Kochen verloren geht.

Analog erhielt Marshall Ward[2]) bei einem parasitischen Pilz der Lilie, einer Botrytisart, dieselben Auflösungserscheinungen wie bei der Peziza; ausserdem aber secernirten die in Nährlösung gezüchteten Pilze granulaenthaltende Secrete, die Cellulose allmählich auflösten. Das Enzym konnte durch Alkoholfällung in trockener Form erhalten werden. Aehnlich sind die Befunde von Manabu Miyoshi[3]) an Botrytis cinerea und Penicillium glaucum. Aus Aspergillus Oryzae hat Newcombe[4]) ein cytolytisches Enzym gewonnen, das in Wasserextracten energisch auf Cellulose, viel schwächer auf Stärke wirkte.

Einen auf Filtrirpapier lebenden Pilz beschreibt Omelianski.[5])

Hadromase: Czapek[6]) nimmt für die Zerstörung des Holzes durch Pilze, z. B. den gewöhnlichen Hausschwamm, Merulius lacrymans, an, dass zunächst der im Holz vorhandene „Aether" der Cellulose, die Verbindung mit dem Hadromal, in seine Bestandtheile: Cellulose und Hadromal gespalten wird, und dass dann die Cytase weiterhin die Spaltung der Cellulose in lösliche Producte vollzieht. Aehnlich wirken Trametes, Polyporus, Agaricus, Pleurotus und Armillaria. Es gelang Czapek, das wirksame Enzym aus Pleurotus pulmonarius und Merulius lacrymans durch Auspressen und Fällen mit Alkohol in fester, wirksam gebliebener Form zu erhalten. Er nennt dieses Enzym Hadromase und hält es für

1) de Bary, Botan. Ztg. 1886. S. 415.
2) Marshall Ward, Annals of botany. II. (1888).
3) Manabu Miyoshi, Jahrb. wissensch. Bot. 28. 277 (1895); s. a. Ward Ann. of bot. XII. 565 (1898).
4) Newcombe, Annals of bot. XIII. 49 (1899).
5) Omelianski, C. R. 121. 653 (1895).
6) Czapek, Ber. d. deutsch. bot. Ges. XVII. 166 (1899).

verschieden von der Cytase, die ebenfalls ausser Diastase ein Product der holzzerstörenden Pilze ist. Er möchte sie in die Reihe der glucosidspaltenden Enzyme stellen. Bis ihre chemische Wirkung genauer erforscht ist, halte ich es für zweckmässiger, sie aus praktischen Gründen im engsten Anschluss an die Cytase zu behandeln, ohne damit irgendwie vorgreifen zu wollen.

Auch Bacterien sondern zellwandlösende Enzyme ab, z. B. Bacillus amylobacter (de Bary)[1], Bac. mesentericus vulgatus (Vignal)[2] u. A.

Den Bacterien im Allgemeinen schreibt Nägeli[3]) die Fähigkeit zu, „Cellulose in Traubenzucker umzuwandeln“.

Durch Alkoholfällung erhielt aus faulendem Rübensaft van Senus[4]) eine Cytase.

„Cytasen“ bei Thieren: Die meisten Versuche, bei Säugethieren Celluloseenzyme aufzufinden, sind negativ ausgefallen (z. B. Duclaux,[5]) Pregl).[6])

Nur Mac Gillawry[7]) will aus dem Proc. vermiformis von Kaninchen einen Cellulose verdauenden Glycerinextract gewonnen haben, und konnte durch diesen Extract eine Kupferoxyd reducirende Substanz aus Cellulose erhalten; Schmulewitsch[8]) schreibt dem Pancreas Cellulose lösende Wirkungen zu.

Brown[9]) fand eine Cytase im Darm von körnerfressenden Thieren.

Häufiger scheinen die Cytasen bei niederen Thieren zu sein.

Bei Fischen fand Knauthe,[10]) dass chloroformhaltige Extracte des Hepatopancreas des Karpfens sehr energisch auf Cellulose, z. B. Filtrirpapier und die Früchte von Symphoricarpus racemosus (Schneebeere) auflösend wirken.

Biedermann und Moritz[11]) gelang es, im Secret der Mitteldarmdrüse („Leber“) der Schnecken (z. B. Helix pomatia) eine sehr kräftig wirksame „Cytase“ aufzufinden, die sowohl Dattelendosperm, als auch noch widerstandsfähigere Cellulosen in weniger als

---

1) de Bary, Vorlesg. üb. Bacterien. Leipzig 1866. S. 65.
2) Vignal cit. n. Green, Ann. of botany. VII. 120.
3) Nägeli, Die niederen Pilze. 1882. S. 12.
4) van Senus cit. n. Flügge, Mikroorganismen. 1896. S. 207.
5) Duclaux, C. R. **94**. 976 (1882).
6) Pregl, Pflüg. A. **61**. 282.
7) Mac Gillawry, Archives néerland. XI. 394 (1876).
8) Schmulewitsch, Bull. Acad. St. Petersb. 1879. 549.
9) Brown, Journ. Chem. Soc. **61**. 352 (1892).
10) Knauthe, Zeitschr. f. Fischerei. V. 189 (1897). cit. n.
11) Biedermann und Moritz, Pflüg. A. **73**. 236 (1898).

einer Stunde zur beginnenden Auflösung bringt. Ein davon etwas verschiedenes Enzym fanden dieselben im „Leber"secret des Flusskrebses (l. c. S. 256). Beide Fermente nehmen beim Verdünnen sehr schnell an Wirksamkeit ab. Extracte der Leber erwiesen sich als unwirksam. Das Enzym lieferte einfache Kohlehydrate und zwar aus Rübencellulose Glucose (?) und eine Pentose; aus Dattelkernen Mannose und keine Pentose. Aus der Reservecellulose der Kaffeebohne wurden Mannose und Galactose erhalten, kurzum, die Spaltung verlief analog der Spaltung durch verdünnte Mineralsäuren.

In gewissem Zusammenhange mit der Celluloselösung durch Enzyme steht die Frage nach den Veränderungen der Cellulose im Darmkanal und ihrer physiologischen Ausnutzung. Es scheint indessen, als ob es sich hier fast ausschliesslich um Fäulnisserscheinungen, nicht um enzymatische Spaltungen handelt. Ich begnüge mich deshalb, auf die ausgezeichneten Arbeiten von Tappeiner[1]) und die Litteraturübersicht bei Biedermann und Moritz[2]) zu verweisen.

Inulinase: Ein Enzym, das ein in manchen pflanzlichen Organen vorkommendes Kohlehydrat, das Inulin, in Fructose spaltet, vermuthete zuerst Dragendorff,[3]) der aber das Ferment nicht finden konnte. Dann fand es Green[4]) in Helianthus tuberosus. Bourquelot[5]) entdeckte es in einigen Pilzen.

Das Inulin tritt dort, wo es vorkommt, an die Stelle der sonst vorhandenen Reservestärke, z. B. in Georginen, in Artischocken etc. Es liefert bei der Spaltung d-Fructose. Malz enthält keine Inulinase. Die Inulinase entsteht in diesen Organen bei der Keimung, doch ist die histologische Sichtbarmachung ihrer Secretion ungleich der Pflanzendiastase noch nicht gelungen. Sie greift Stärke nicht an, wird durch Kochen zerstört und ist äusserst empfindlich gegen Säuren.

Sie ist in den Pflanzen als Zymogen enthalten (Green).[6])

Seminase: Diastatische Fermente, die das Mannogalactan, einen pflanzlichen Reservestoff, das sog. „Horneiweiss" der Samen, in Mannose und Galactose spalten, haben Bourquelot

1) Tappeiner, Z. f. Biol. XX. 52 (1884).
2) Biedermann und Moritz, Pflüg. A. 73. 219 (1898).
3) Dragendorff, Materialien zu einer Monographie des Inulins. St. Petersb. 1870. cit. n. Wortmann, Biol. Ctbl. III. S. 266.
4) Green, Annals of botany. I. 223.
5) Bourquelot, Bull. soc. Mycol. X. 235; s. a. ibid. IX. 230. S. A.
6) Green, Annals of botany. VII. 122.

und Hérissey[1]) u. A. im Johannisbrod, in Medicagoarten (Luzerne) und Trigonella foenum graecum aufgefunden. Sie nehmen hier ein von der Diastase verschiedenes, specifisches Ferment an, dem sie den Namen Seminase gegeben haben.

Carubinase: Aehnlich ist wohl das noch wenig untersuchte Enzym, das in den keimenden Samen von Ceratonia siliqua vorkommen soll und von seinem Entdecker Effront[2]) als Carubinase bezeichnet wird. Es entsteht dabei aus Carubin, einem nicht näher bekannten Polysacharid, ein Zucker, den man als Carubinose bezeichnete, der aber nach van Ekenstein[3]) mit d-Mannose identisch ist.

Pectinase: Unter diesem Namen beschreibt Bourquelot[4]) ein im gekeimten Malz vorkommendes Enzym, das im Stande ist, die in den Pflanzen vorkommenden kohlehydratähnlichen Pectinstoffe in reducirende Zucker zu spalten, auch dann, wenn die Pectinstoffe durch das eigenthümliche, mit ihnen zugleich vorkommende Enzym, die Pectase (s. d.) coagulirt sind, während umgekehrt nach der Pectinasewirkung die Pectase ihre Wirkung nicht mehr entfaltet. Sie findet sich zusammen mit Diastase im Malz, fehlt aber unter anderem im Speichel und in Aspergillus, ist also von der Diastase verschieden.

Sie ist sehr empfindlich auch schon gegen eine geringe Acidität der Medien, die also durch Zusatz von Kreide abgeschwächt werden muss, um ihre Wirkung zu erkennen.

---

1) Bourquelot und Hérissey, C. R. **129**. 228. 391. 614 (1899). **130**. 42. 340. 731 (1900). Journ. d. Pharm. et Chim. (6). XI. 104 (1900).

2) Effront, C. R. **125**. 116 (1897).

3) van Ekenstein, C. R. **125**. 719 (1897).

4) Bourquelot, Journ. d. Pharm. et Chim. 1899. S. A. s. a. Bourquelot und Hérissey, C. R. soc. biol. 1898. 777.

Siebzehntes Capitel.

Die Fermente der Disacharide.

Maltase.

Dass neben dem Hauptproduct der diastatischen Fermentation, der Maltose, auch Traubenzucker entsteht, fanden Musculus und Gruber;[1] v. Mering[2]) machte die wichtige Entdeckung, dass er kein primäres Product ist. Obzwar nun die Maltose von Hefe vergohren wird, nahm er doch an, dass sie vor der alkoholischen Gährung erst in Glucose gespalten wird; er konnte diese allerdings bei dem Gährungsprocess nicht fassen.

Cuisinier[3]) liess sich dann im Jahre 1885 ein Verfahren patentiren, um zuckerreiches Brod, das einen Zucker, Cerealose, enthalten sollte, darzustellen. Er und sein Schüler Géduld[4]) fanden dann, dass hier Glucose durch ein besonderes Enzym gebildet wird, das sie Glucase nannten.

Fast gleichzeitig führte den Nachweis, dass wirklich bei jeder Gährung der Maltose, auch der Milchsäuregährung, erst Glucose entsteht, Bourquelot,[5]) indem er die alkoholisirende Kraft der Hefe lähmte (durch Chloroform); dabei blieb die maltosespaltende bestehen. Er und Hamburger[6]) nahmen für diese Spaltung ein besonderes Enzym an, das letzterer auch Glucase nannte. E. Fischer[7]) gelang es dann, die Frage definitiv zu lösen mit Hilfe der Osazonreaction, wodurch er die entstehende Glucose direct nachweisen konnte.

---

1) Musculus und Gruber, Z. ph. Ch. II. 182.

2) v. Mering, Z. ph. Ch. V. 187.

3) Cuisinier, wörtlich citirt bei Beyerinck. C. f. Bact. (II). I. 329. (1895). s. a. Chem. Ctbl. 1886. 614.

4) Géduld, Wochenschr. f. Brauerei. VIII. 545 (1891).

5) Bourquelot, Journal de l'anat. et phys. 22. 162 (1886). Journal de pharm. 1883. 420.

6) Hamburger, Pflüg. A. 60. 575.

7) E. Fischer, Chem. B. 28. 1433 (1895).

Es existirt also ein specifisches Enzym, das die Maltose in 2 Molecüle Glucose spaltet, und am besten mit dem Namen Maltase[1]) bezeichnet wird.

Die Maltase ist sowohl im Pflanzenreich als im Thierreich weit verbreitet, und meist eine Begleiterin der diastatischen Fermente (s. d.); vor Allem wichtig ist ihr Vorkommen im Malzextract. Beyerinck (l. c.) hat ein wirksames Präparat aus enthülstem und entölten Mais durch Extraction mit schwacher Weinsäure (0,1:250,0) und etwas Alkohol und Fällen mit stärkerem Alkohol erhalten.

Wie bei den Diastasen, so scheinen auch bei den Maltasen kleine Differenzen vorzukommen, so dass E. Fischer[2]) eine Mehrzahl von Maltasen annimmt. Besonders scheint zwischen Malzmaltase und Hefenmaltase ein Unterschied zu bestehen. Erstere ist gegen Alkohol einigermassen beständig, letztere wird sehr bald zerstört. Auch gegen Wärme ist ihre Empfindlichkeit verschieden.

Von besonderer Wichtigkeit ist ihr Vorkommen in den Kryptogamen. Bourquelot[3]) und seine Schüler haben sie in vielen Pilzen gefunden.

Die Hefepilze enthalten fast alle Maltase. Nur ist sie bei ihnen stets fester gebunden als die Diastase, so dass frische, lebende Hefe an Wasserinfuse keine Maltase abgiebt. Man muss die Hefe vorher trocknen (s. u.).

In der Takadiastase, der Hefe von Aspergillus Oryzae (s. S. 177) fanden Kellner, Mori und Nagaoka[4]) eine Maltase neben Invertase. Ueberhaupt ist in den Wasserauszügen getrockneter Hefen die Maltase stets von Invertase begleitet, mit Ausnahme von Sacharomyces Octosporus,[5]), der keine Invertase enthält. Maltase fehlt allen Milchzuckerhefen, sowie Kefirkörnern, die an ihrer Stelle Lactase führen; ferner dem Sacharomyces Marxianus,[6]) der nur Invertase enthält, dem S. apiculatus, der beide entbehrt, und noch einigen anderen Sacharomyceten.

Sie wird nach der Vorschrift von E. Fischer[7]) aus mit Wasser ausgewaschener und scharf getrockneter Bierhefe durch Digestion mit Wasser bei 35^0 gewonnen. Frische Hefe giebt an Wasser keine

1) Bourquelot, Journ. de pharm. et chim. August 1895. S. A.

2) E. Fischer, Z. phys. Ch. 26. 74 (1898).

3) Bourquelot u. A., Bull. soc. mycol. IX. 230. S. A., B. und Herissey, ibid. X. 235. S. A.

4) Kellner, Mori und Nagaoka, Z. phys. Ch. XIV. 305.

5) E. Fischer, l. c. S. 77.

6) E. Fischer und Lindner, Chem. B. 28. 3037 (1895).

7) E. Fischer, Z. phys. Ch. 26. 75 (1898).

Maltase ab, so dass normaler Weise die der Gährung vorhergehende Hydrolyse innerhalb der Zelle vor sich gehen muss.

Hill[1]) hat sie aus getrockneter Hefe mit 0,1 %iger Natronlauge und Fällen mit Alkohol isolirt. Das Optimum ihrer Wirkung liegt bei 40°, bei 55° wird sie zerstört (Lintner und Kröber).[2])

Sie hält sich in wässriger Lösung nur wenige Tage. Hill konnte sie indessen in sterilisirten und gut verschlossenen Flaschen mehrere Monate ohne wesentliche Abschwächung aufbewahren. Durch Alkohol wird sie anscheinend zerstört, desgleichen wird sie durch Chloroform geschädigt (Lintner und Kröber,[2]) s. a. E. Fischer, l. c. S. 75).

Herissey[3]) giebt dagegen an, dass die Aspergillusmaltase gegen Chloroform unempfindlich ist.

Die Wirksamkeit dieses und der übrigen die Disacharide spaltenden Enzyme kann man am besten studiren, wenn man die vitale Zellthätigkeit der Hefen, die zu Alkoholgährung führen würde, durch Zusatz von etwa 1 Proc. Toluol lähmt (E. Fischer l. c. S. 75), nicht mit Chloroform.

Maltase scheint auch die Fähigkeit zu haben, wenn auch wohl nicht Stärke, so doch Dextrine zu spalten; wenigstens schreiben die meisten Untersucher der Maltase die Fähigkeit zu, bei der Nachgährung die Dextrine weiter abzubauen, da sich in fertigen Bieren zwar beträchtliche Zuckermengen, aber sehr wenig Dextrine vorfinden.

Thierische Maltasen: Dass sich bei der Verzuckerung von Stärke durch thierische Flüssigkeiten (Speichel, Darmsaft, Pancreas) ausser Maltose auch Traubenzucker bildet, wurde durch v. Mering und Musculus,[4]) Külz[5]) u. A. bekannt. v. Mering[6]) zeigte, dass Maltose durch Speichel und Pancreas in Glucose gespalten wird. Bourquelot[7]) und Hamburger[8]) wiesen auf das Vorhandensein eines specifischen, die Maltose in Glucose verwandelnden Enzyms hin. Shore und Tebb[9]) untersuchten die Maltose spaltende Wirkung vieler getrockneter Gewebe. Dünndarm vom Schwein wirkte am stärksten. Auch in Leber,

---

1) Hill, Journ. of the Chem. Soc. 73. 634 (1898).
2) Lintner und Kröber, Chem. B. 28. 1050 (1895).
3) Herissey, C. R. soc. biol. 1896. 915.
4) v. Mering und Musculus, Z. ph. Ch. II. 403.
5) Külz, Pflüg. A. 24. 81 (1881). Külz und Vogel, Z. f. Biol. 31. S. 108 (1894).
6) v. Mering, Z. ph. Ch. V. 190.
7) Bourquelot, Journ. de l'anat. et phys. 22. S. 200 (1886).
8) Hamburger, Pflüg. A. 60. 575. s. a. Röhmann, Chem. B. 27. 3252 (1894).
9) Shore und Tebb, Journ. of physiol. XIII. S. XIX.

Nieren etc. fand Tebb[1]) Maltase. Bourquelot[2]) fand im Dünndarm von Kaninchen mehr Maltase als im Pancreas, und zwar hauptsächlich in der Mitte des Darms.

Im Blut fanden Maltase Dubourg,[3]) Gley und Bourquelot,[4]) Hamburger[5]). Tebb,[1]) Fischer und Niebel[6]) wiesen ihr Vorhandensein im Serum zahlreicher Thiere nach.

Im Blut der Frösche findet sich ein dextrinspaltendes Ferment (Maltase?) nur während des Frühjahrs und Sommers, nicht aber im Winter. In dieser Jahreszeit geht in die Venen eingespritztes Dextrin unverändert in den Harn über.[7])

Invertase, Sucrase: Dass die Hefe Rohrzucker vergährt, ist eine längst bekannte Thatsache. Dumas und Boullay[8]) hatten 1828 gezeigt, dass der Rohrzucker vor der Gährung erst ein Molecül Wasser aufnehmen müsse. Dubrunfaut[9]) erkannte (1830), dass er dabei in einen unkrystallisirbaren Zucker übergeht. Persoz[9]) erkannte die Linksdrehung des Invertzuckers, Biot[9]) die Invertirung durch Säuren.

Man hat dann auch schon frühzeitig erkannt, dass die Umwandlung von Rohrzucker nicht zu der eigentlichen Thätigkeit der Hefe gehört, sondern dass hier ein besonderes Ferment mitwirkt.

Der Rohrzucker wird durch dies Enzym gespalten in ein Molecül rechtsdrehender d-Glucose und ein Molecül linksdrehender d-Fructose. Da nun die Fructose stärker links dreht als die Glucose rechts, so dreht das Gemisch beider Zucker (zu gleichen Theilen) links und wird deshalb als Invertzucker bezeichnet.

Baudrimont und Dubrunfaut[10]) machten nach vorhergehenden gelegentlichen Aeusserungen von Döbereiner und Mitscherlich auf dies Enzym der Hefen aufmerksam. Berthelot[11]) stellte es zuerst durch Alkoholfällung in trockenem Zustande dar und nannte es

1) Tebb, Journ. of physiol. XV. 421.
2) Bourquelot, C. R. 97. 1000 (1883).
3) Dubourg, Sur l'amylase de l'urine. Thèse. Paris 1889. cit. n.
4) Gley und Bourquelot, C. R. soc. biol. 1895. 247.
5) Hamburger, Pflüg. A. 60. 575. s. a. Röhmann, Chem. B. 27. 3253. 1884.
6) Fischer und Niebel, Sitzb. Berliner Acad. 1896. V. S. A.
7) cit. n. Schützenberger, l. c. S. 255. Anm.
8) Dumas und Boullay, Ann. Chim. Phys. 37. 45.
9) cit. n. Pasteur, Die Alkoholgährg. dtsch. v. Griessmayer. Stuttgart 1878. (II. Aufl.). S. 8.
10) Baudrimont und Dubrunfaut, cit. n. Quevenne, J. pr. Ch. XIV. 334.
11) Berthelot, C. R. 51. 980 (1860).

„ferment inversif", Béchamp[1]) „Zymase". Bernard wies auf seine Anwesenheit im Darmsaft hin.

Invertase wurde nach verschiedenen Verfahren dargestellt und näher untersucht von Liebig,[2]) Berthelot,[3]) Donath[4]) u. A. Hoppe-Seyler[5]) versuchte ihre Isolirung durch Extraction mit Wasser, nachdem er die lebenden Zellen mit Aether getötet hatte. Barth[6]) unternahm, dasselbe nach dem Vorgang von Salkowski[7]) durch Erhitzen der trockenen Hefe auf 105° zu erreichen, und hat dann die Eigenschaften der Invertase genauer untersucht, die er aus dieser trockenen, sterilen Hefe durch Extraction mit Wasser und Fällung mit Alkohol erhielt. Mit Glycerinextraction erhielt Gunning,[8]) aus der durch Stehenlassen gepresster Hefe (1—2 Monate lang) gewonnenen „flüssigen" Hefe in reichlicher Menge O'Sullivan und Tompson[9]) Invertase. Sehr wirksame Lösungen erhält man aus Reinculturen von Aspergillus niger (s. u.). In einer Anzahl anderer Hefen fand Invertase Kalanthar,[10]) in Mucorhefen Fitz.[11])

Ihre Reindarstellung wurde von Lea[12]) und Wróblewski[13]) vergeblich versucht.

Sie wurde dann weiterhin von Osborne[14]) genau untersucht. Er liess die Hefe mit Alkohol stehen, extrahirte mit Chloroformwasser und reinigte die Invertase weiterhin durch Ausfällen mit Bleiacetat und Dialyse. Sie enthielt dann nur noch wenig Asche. Sie ist keine Eiweisssubstanz, aber noch kohlehydrathaltig. Nach Hartley[15]) lässt sie sich auch spectroskopisch von Eiweisssubstanzen unterscheiden.

Die Invertase ist analog der Maltase aus gesunden frischen Hefezellen nicht oder doch nur in geringer Menge zu isoliren.[16]) Als Mittel, deren man sich bedienen muss, um den Widerstand der Zellen

---

1) cit. n. Schützenberger, l. c. S. 240.
2) Liebig, seine Annalen. **153**. 1. 137.
3) Berthelot, C. R. **51**. 980 (1860).
4) Donath, Chem. B. VIII. 795 (1875).
5) Hoppe-Seyler, ibid. IV. 810 (1871).
6) Barth, ibid. XI. 474. vgl. dazu auch Nägeli, Münch. Acad. 1878. S. 178.
7) Salkowski, C. med. Wiss. 1877. 606.
8) Gunning, Chem. Ber. V. 821 (1872).
9) O'Sullivan und Tompson, Journ. chem. Soc. **57**. 834 (1890).
10) Kalanthar, Z. phys. Ch. **26**. 89 (1898).
11) Fitz, Chem. Ber. VI. 48 (1873). IX. 1352 (1876).
12) Lea, Journal of Physiology. VI. (1885).
13) Wróblewski, Chem. Ber. **31**. 1134 (1898).
14) Osborne, Z. phys. Ch. **28**. 399 (1889).
15) Hartley, Journ. Chem. Soc. **51**. 58 (1887).
16) O'Sullivan, Journ. Chem. Soc. **61**. 593 (1892).

zu brechen und so das Enzym in den Wasserextract zu bekommen, benutzt man Alkohol (Lea),[1] Chloroform, Toluol (Bourquelot,[2] E. Fischer)[3]; oder man zerstört die Zellwand durch Zerreiben mit Glaspulver (E. Fischer)[3]) oder langsame Maceration (Pottevin und Napias).[4] Auch trockenes Erhitzen führt zum Ziel.

Die einzelnen Hefeninvertasen unterscheiden sich durch gewisse Eigenschaften, besonders durch ihre Empfindlichkeit gegen störende Einflüsse und durch ihre Optimaltemperatur. Charakteristisch für die physiologische Bedeutung der Enzyme ist, dass die Invertase der obergährigen Hefe ihre Optimaltemperatur um 25⁰ höher hat als die der untergährigen. Hier liegt eine typische „Anpassung" der Enzyme vor.

Die Hefeninvertase spaltet auch die Melitriose (Raffinose), ein Trisacharid des Rübenzuckers, in Fructose und Melibiose,[3] desgleichen auch ein in Gentiana lutea vorkommendes Kohlehydrat, die Gentianose.[5]

Invertase enthalten fast alle Hefen; die meisten neben Maltase, die Milchzuckerhefen neben Lactase. Einige, so z. B. Sacharomyces Marxianus enthalten nur Invertase.[6]

Dagegen fehlt die Invertase einigen Hefen, so z. B. dem Sacharomyces apiculatus (Hansen).[7]

Die Invertase ist in wässriger Lösung wohl das empfindlichste aller Enzyme. Sehr verdünnte Säuren bewirken zwar hier, wie überall, eine Beschleunigung der Fermentwirkung; doch schlägt diese bei schon sehr geringer Säuremenge in das Gegentheil um (Fernbach). Besonders Oxalsäure ist schädlich.

Sie wird schon bei ziemlich niederer Temperatur in wässeriger Lösung unwirksam, bei längerer Einwirkung schon bei 45—50⁰ (A. Mayer).[8] Nach Kjeldahl[9] wird sie bei 70⁰ schnell zerstört, ihr Wirkungsoptimum liegt bei 53—56⁰; dabei wird sie natürlich in Rohrzuckerlösungen untersucht.

Durch diesen wird sie also, wie alle Enzyme durch ihr Substrat, etwas geschützt (A. Mayer).[8] Nach Kjeldahl[9] sind ferner Alka-

1) Lea, Journ. of physiol. VI (1885).
2) Bourquelot, C. R. soc. biol. 1896. 205.
3) E. Fischer, Z. phys. Ch. 26. 75 (1898).
4) Pottevin und Napias, C. R. soc. biol. 1898. 237.
5) Bourquelot, C. R. soc. biol. 1898. 200.
6) E. Fischer, l. c.
7) Hansen cit. n. Müller-Thurgau, Landwirthsch. Jahrb. 1885. 795.
8) A. Mayer, Z. ges. Brauw. 1892. 86. Enzymologie. S. 23.
9) Kjeldahl, Z. ges. Brauw. 1881. 457.

lien und Quecksilbersalze schädlich, Licht ist nach Mayer ohne Einfluss, ebenso Blausäure, nach Béchamps[1]) auch Borsäure. Pepsin in schwach saurer Lösung zerstört sie (Falk).[2]) Auch durch Alkohol wird sie geschädigt (A. Mayer).[3])

Duclaux[4]) fand Sublimat wenig, Cyankalium stark hemmend.

Die Bedingungen der Invertasewirkung sind u. A. von Tamman,[5]) A. Mayer[6]) und Müller-Thurgau[7]) untersucht worden. Die Zersetzung des Rohrzuckers nimmt ungefähr proportional der Fermentmenge zu. Sie zeigt bei höherer Temperatur eine schnelle Abnahme der Wirksamkeit, wird aber auch bei ziemlich niederer Temperatur (40°) relativ schnell geschwächt.

Müller-Thurgau fand ferner, dass die Curve der verbrauchten Rohrzuckermengen in bestimmten Zeiten nur bei niederer Temperatur eine gerade Linie ist, dass dagegen bei höherer Temperatur die in gleichen Zeiten verbrauchten Mengen mit der Zeit abnehmen, während natürlich die absoluten Mengen innerhalb der gleichen Zeit bei höherer Temperatur grösser sind; er drückt dies in einer Reihe aus. Es verhalten sich bei den Temperaturen

$$0, 10, 20, 30, 40^0$$

die zersetzten Mengen in gleichen Zeiten wie

$$9 : 19 : 36 : 63 : 93.$$

Er führt das allmähliche Abnehmen der Wirkung auf Anhäufung von Spaltproducten zurück, die die Wirkung stören. Reiner Rohrzucker hinderte selbst in sehr starker Concentration die Wirksamkeit nicht.

Eine eigenartige Anschauung über die Natur der Invertase vertreten O'Sullivan und Tompson.[8]) Sie nehmen an, dass Invertase in eine homologe Reihe von sieben verschiedenen Invertanen zerfällt, die sich durch ihre Moleculargrösse, sowie durch verschiedenen Stickstoffgehalt und verschiedenes Drehungsvermögen unterscheiden. Das α-Invertan ist scheinbar identisch mit dem Hefe-Albuminoid und unlöslich in Wasser; das eigentliche Enzym ist das β-Invertan, das zweite in der Reihe. Alle sind complexe Eiweisskörper und rechtsdrehend. Ein constanter Bestandtheil des Complexes ist das letzte der Reihe, das η-Invertan, das auf 1 Theil Albuminoid 18 Theile Kohlehydrat enthält. Genaueres muss im Original

---

1) Béchamps, C. R. 75. 337.
2) Falk, Du Bois Archiv f. Physiol. 1882. 187.
3) Mayer, Enzymologie. Heidelberg 1882. S. 13.
4) Duclaux, Ann. Past. XI. (1897).
5) Tamman, Z. phys. Ch. XVI. s. im Allg. Theil.
6) A. Mayer, l. c.
7) Müller-Thurgau, Thiel's Landw. Jb. 1885. 795.
8) O'Sullivan und Tompson, Journ. Chem. Soc. 57. 834 (1890).

nachgesehen werden. Die Arbeit bietet auch sonst eine Fülle interessanter Details über die Invertase.

Im völlig abgeklärten Wein ist sie nach Müller-Thurgau[1]) nicht mehr vorhanden; eine dann noch eintretende Inversion ist nur auf Rechnung der Weinsäure zu stellen, in jüngeren Weinen ist sie dagegen nachweisbar.

Die Invertase der Hefe und anderer Pilze ist von denen der anderen Pflanzen in manchen Punkten, besonders in Bezug auf Empfindlichkeit, beträchtlich verschieden.

Ihr Auftreten in anderen Kryptogamen wurde wohl zuerst von Béchamps[2]) in Schimmelpilzen beobachtet.

In Pilzen der Gattung Fusarium fand Wasserzug[3]) Invertase, die während der Conidienbildung producirt wird; in Leuconostoc mesenterioides, einem Parasiten des Rübensaftes, ist sie nach Zopf[4]) enthalten, Gayon[5]) fand sie in Aspergillus, nicht aber in Mucor.

In anderen Kryptogamen fand sie zuerst Kossmann[6]) in vielen Pilzen und Algen. Dann war es Bourquelot,[7]) der Invertase in vielen Pilzen fand, z. B. in Aspergillus, nicht aber in Polyporus. Fernbach[8]) hat die Invertase des Aspergillus in Bezug auf ihre biologische Bedeutung untersucht. Er fand sie nur dann, wenn die Pilze anfingen, ihre Reservestoffe anzugreifen, d. h. wenn sie Noth litten. Um ihre Menge in vergleichbaren Werthen auszudrücken, hat er eine „Einheit“ eingeführt. Die Einheit der „Sucrase“ ist diejenige Menge, die 20 cg Sacharose bei 56° invertirt. Auch der Aspergillus Oryzae, der die Takadiastase absondert, enthält Invertase. Die Aspergillus-Invertase ist viel beständiger gegen Säuren.

Interessant ist das Verhalten der Monilia candida. Obwohl sie Rohrzucker zu vergähren im Stande ist, lässt sich aus ihr keine Invertase erhalten. Es schien also hier der einzige Fall einer directen Vergährung des Rohrzuckers vorzuliegen. Doch gelang es E. Fischer und Lindner[9]) nachzuweisen, dass die getrocknete Hefe, wenn man ihre eigentlich vitale Gährthätigkeit durch Toluol aufhebt, den Rohr-

---

1) Müller-Thurgau, l. c. S. 815.
2) Béchamps, C. R. 46. 44 (1858).
3) Wasserzug, Ann. Inst. Pasteur. I. 525 (1886).
4) Zopf cit. n. Schlesinger, Virch. A. 125. 156.
5) Gayon, C. R. 86. 52 (1878).
6) Kossmann, Bull. soc. chim. (1877). 27. 251.
7) Bourquelot, a. d. a. O.
8) Fernbach, Ann. Inst. Pasteur. IV. 1 (1890).
9) E. Fischer und Lindner, Chem. B. 28. 3034. Z. phys. Ch. 26. (1898). S. 77.

zucker invertirt, und dass dasselbe bei der frischen Hefe der Fall ist, wenn man ihre Zellen durch Glaspulver zerreisst. Auch bei der Monilia candida findet also erst Hydrolyse, dann Vergährung statt, nur ist die specifische Invertase scheinbar in Wasser unlöslich. Ganz ähnliche Verhältnisse fand Fernbach[1]) auch bei anderen Pilzen.

Auch einzelne Bacterien liefern Invertase, so der Bacillus mesentericus vulgatus (Vignal),[2]) Bac. megaterium (Fermi)[3]) und einige andere, jedoch einige nur in saurer, andere in alkalischer Bouillon. Inconstant findet sie sich auch im Choleravibrio.[4])

Invertase der Phanerogamen: Auch höhere Pflanzen enthalten in den lebenden Zellen Invertase. Dass im Haushalt der Pflanzen dieses Enzym eine Rolle spielt, erhellt schon daraus, dass sie Rohrzucker in ihren Säften bilden und verbrauchen, während andererseits der Rohrzucker vor der Assimilation invertirt sein muss, was nicht allein durch die Pflanzensäuren geschehen kann.[5]) Im Malzextract fanden sie Brown und Heron,[6]) in Blättern Kossmann,[7]) in Pollenkörnen van Tieghem.[8])

O'Sullivan[9]) wies dann die Gegenwart von Invertase in den Organen von Gramineen in derselben Weise nach, wie man sie in lebenden Hefezellen demonstrirt. Er behandelte Wurzeln, Stengel, Blätter von Weizen, Erbsen und Mais bei ca. 50° mit einer mit Chloroform gesättigten Rohrzuckerlösung. Dabei konnte Spaltung nachgewiesen und gemessen werden.

Thierische Invertase: Im thierischen Organismus findet sich Invertase im Darmsaft, dessen invertirende Eigenschaft von Claude Bernard[10]) entdeckt wurde. Sie wurde dann vielfach näher untersucht (Röhmann,[11]) v. Mering,[12]) Grünert,[13]) Miura,[14]) Krüger);[15]) sie

1) Fernbach, l. c.
2) cit. n. Green, Ann. of bot. VII. 120.
3) Fermi, C. f. Bact. XII. 713.
4) Fermi und Montisano, C. f. Bact. (II). I. 482. 542 (1895).
5) Wortmann, Biolog. Centralbl. III. 263.
6) Brown und Heron, Journ. Chem. Soc. 35. 609 (1879).
7) Kossmann, C. R. 81. 406.
8) van Tieghem, Bull. soc. bot. d. France. 33. 216 (1886).
9) O'Sullivan, Proceed. Chem. Soc. XVI. 61. Chem. Centralbl. 1900. I. 773.
10) Claude Bernard, Leç. sur le Diabète. Paris 1887. S. 259.
11) Röhmann, Pflüg. A. 41. S. 432. (dort ältere Litterat.). s. a. Köbner, Z. f. Biol. 33. 404 (1896).
12) v. Mering, Z. phys. Ch. V. 192.
13) Grünert, C. f. Phys. V. 285.
14) Miura, Z. f. Biol. 32. 277.
15) Krüger, Z. f. Biol. 37. 229 (1899).

findet sich auch bei Totgebornen, wird also nicht etwa nur mit der Nahrung aufgenommen (Miura)[1]; sie fehlt aber in dem Darm des Rindes (Emil Fischer und Niebel).[2] Im oberen Darmtheil findet sie sich mehr als im unteren (Röhmann l. c.).

Dagegen fehlt sie im Pancreas und Speichel (v. Mering,[3] Brown und Heron);[4] findet sich aber im Bienenspeichel (Erlenmeyer).[5] Sie fehlt auch im Blut, da Rohrzucker bei intravenöser Injection unverändert im Harn erscheint (Cl. Bernard).[6]

Trotzdem fand Renzi[7] nach Exstirpation der Speicheldrüsen die Assimilationsgrenze für Rohrzucker herabgesetzt, eine Thatsache, die sehr der Aufklärung bedürftig ist.

Robertson[8] fand Invertase in fast allen Organen.

Nach Nasse[9] wird die Wirkung der Invertase durch Sauerstoff und Kohlenoxyd beeinträchtigt, dagegen wirkt nach Fermi und Pernossi[10] Schwefelwasserstoff nicht auf sie ein. Gegen Säuren und Alkalien ist sie sehr empfindlich, namentlich bei höherer Temperatur. Auch ohne Säure wird sie bei 75° schnell zerstört.[11] Neutralsalze verhalten sich ausserordentlich verschieden, Ammoniaksalze wirken sehr energisch fördernd, Chlorkalium stark hemmend etc.,[12] Alkohol hemmt schwach, Weinsäure wirkt günstig.[13]

Trehalase: Ein Enzym, das die Trehalose, ein in Pilzen und einer Mannaart (Trehala) vorkommendes Disacharid, in zwei Mol. Glucose spaltet, fand Bourquelot[14] in Aspergillus und anderen Pilzen, ferner auch im Grünmalz. Er nannte es Trehalase.

E. Fischer[15] fand sie in Grünmalzdiastase und in sehr geringer Menge auch in Hefen vom Frohbergtypus, wo sie allerdings nicht

---

1) Miura, Z. f. Biol. 32. 277.
2) Fischer und Niebel, Sitzb. Berl. Acad. 1896. V. S. A.
3) v. Mering, Z. phys. Ch. V. 192.
4) Brown und Heron, Liebig's Ann. 204. S. 228.
5) Erlenmeyer, Münch. Acad. Sitzb. Math. phys. Cl. 1874. 205.
6) Cl. Bernard, cit. n. Schützenberger, l. c. S. 259.
7) Renzi, Berl. klin. Woch. 1892. No. 23.
8) Robertson, Edinburgh. Med. Journ. 1894. cit. n. Edmunds, Journal of physiology. XIX. 466 (1895).
9) Nasse, Pflüg. A. XV. 471.
10) Fermi und Pernossi, Z. f. Hygiene. XVIII. 83.
11) s. u. a. Green, Annals of botany. VII. S. 92.
12) Nasse, Pflüg. A. XI. 162.
13) Müller-Thurgau, Thiel's Landwirthsch. Jahrb. 1885. 795.
14) Bourquelot, Bull. soc. mycol. d. France. IX. 64. 189 (1893). S. A.
15) E. Fischer, Z. ph. Ch. 26 (1889). S. 79.

in den Wasserextract übergeht. In mehreren anderen Hefen fand sie Annusch Kalanthar[1]); Bau[2]) constatirte, dass die einzelnen Hefen sich sehr unregelmässig in Bezug auf Trehalase verhalten, so dass man sie nicht darnach gruppiren kann.

Bourquelot (l. c.) erhielt sie aus dem wässrigen Extract durch Fällen mit Alkohol. Sehr schwache Säuren befördern ihre Wirkung etwas, doch wird sie schon durch geringe Mengen geschwächt.

Ihre Wirksamkeitsgrenze liegt bei 64°, wodurch sie Bourquelot[3]) von der Maltase, die etwas höhere Temperatur erträgt, trennen konnte.

Mit voller Sicherheit lässt sich ihre Existenz noch nicht beweisen, obwohl die bedeutende structurelle Verschiedenheit der Maltose und der Trehalose die Annahme bedenklich macht, dass die Trehalase nur eine Modification der Maltase ist (E. Fischer l. c., S. 81).

Bourquelot und Gley[4]) führen für die Specifität der Trehalase ins Feld, dass das maltaseführende Blutserum Trehalose nicht angreift.

Ebensowenig ist die Specifität des Enzyms erwiesen, dass Melicitose in Turanose und Glucose spaltet (Bourquelot und Hérissey).[5]) Sie fanden es in Aspergillus niger.

Melibiase: Aus der Melitriose oder Raffinose lässt sich durch Invertasewirkung ein eigenartiges Disacharid, die Melibiose, abspalten, das bei weiterer Spaltung in d-Galactose und d-Glucose, also der Lactose analog zerfällt.

Diese Spaltung geschieht nun auch durch ein Enzym, das in einigen Unterhefen vorhanden ist, das aber allen Oberhefen fehlt. Es wirkt sowohl in der frischen wie in der getrockneten Hefe, geht aber schwer in den wässerigen Auszug über (E. Fischer und Lindner).[6]) Bauer[7]) hat diesem Enzym den Namen Melibiase gegeben. E. Fischer[8]) neigt indessen zu der Annahme, dass die Melibiase nur eine etwas abweichende Maltase ist. Invertase wirkt auf Melibiose nicht ein. Die „Anpassung" von Hefen an Melibiose und die dabei auftretende Production von Melibiase hat Dienert[9]) untersucht.

1) Kalanthar, Z. phys. Ch. 26. 97 (1898).
2) Bau, Z. f. Spirit. Ind. 1899. 232. cit. n. Chem. Centralbl.
3) Bourquelot, C. R. de la soc. biol. 1893. 425.
4) Bourquelot und Gley, C. R. soc. biol. 47. 515 (1895).
5) Bourquelot und Hérissey, C. R. 125. 116 (1897).
6) E. Fischer und Lindner, Chem. B. 28. 3034 (1895).
7) Bauer, Chemikerzeitung. 1895. 1873.
8) E. Fischer, Z. phys. Ch. 26. 81 (1898).
9) Dienert, C. R. 129. 63 (1899).

Lactase ist ebenfalls ein specifisch wirkendes Enzym, das seine Thätigkeit ausschliesslich auf Milchzucker (Lactose) beschränkt und dieses Disacharid in d-Glucose und d-Galactose spaltet.

Sie wurde zuerst von Beyerinck[1]) in Milchzuckerhefen (Sacharomyces Kefir und Sacharomyces Tyrocola) angenommen, der ihr den Namen gab und ihre Existenz dadurch zu beweisen suchte, dass Leuchtbacterien auf Milchzuckernährböden nur dann ihre Thätigkeit entfalten konnten, wenn diesen Nährböden etwas der genannten Hefeculturen zugesetzt, dadurch etwas Glucose und damit also ein den genannten Bacterien zusagender Nährstoff erzeugt wurde (Auxanographische Methode s. o.). Indessen wurde die Beweiskraft dieser Versuche von Stekhoven[2]) bestritten. Erst Emil Fischer[3]) bewies ihre Existenz durch den Nachweis der Spaltung vermittelst der Bildung von Glucosazon. Er konnte sie aus Kefirkörnern durch Wasserextraction und Fällung mit Alkohol, allerdings nicht frei von Invertase, darstellen. Reinculturen von Milchzuckerhefen lieferten zwar nur wenig wasserlösliches Enzym, die Hefe selbst aber hydrolysirte bei Gegenwart von Toluol kräftig Milchzucker, verhielt sich also ähnlich wie die Monilia candida in Bezug auf Invertase (s. d.). Dienert[4]) hat dann durch Verreiben von Hefen, die er an Milchzuckervergährung angepasst hatte, mit destillirtem Wasser Lactase erhalten.

Maltase und Lactase scheinen sich in den verschiedenen Hefearten zu vertreten, da sie niemals zusammen in einer Hefeart beobachtet worden sind (F. Fischer).[5]) Auch in maltaseführenden Pilzen fanden Bourquelot und Hérissey[6]) keine Lactase. Die Lactase scheint überhaupt näher mit den Fermenten vom Emulsintypus (s. u.) als mit den übrigen Hefeenzymen vom Maltasetypus verwandt zu sein, da auch Emulsin den Milchzucker spaltet, während Maltase dies nicht thut.

Andererseits hat Laborde[7]) in dem Eurotiopsis Gayoni einen Pilz beschrieben, der sowohl Maltose als Lactose angreift, also auch Lactase zu produciren scheint.

---

1) Beyerinck, Centralbl. f. Bacteriol. VI. 44 (1889).
2) Stekhoven, cit. n.
3) E. Fischer, Chem. B. 27. 3481 (1894).
4) Dienert, C. R. 129. 63 (1899).
5) E. Fischer, Z. ph. Ch. 26. 81.
6) Bourquelot und Hérissey, C. R. (1895). 693. Bull. soc. mycol. X. S. 235. S. A.
7) Laborde, Ann. Inst. Pasteur. XI. 1. (1897).

Die Fähigkeit, ein Milchzucker spaltendes Ferment abzusondern, wird von Nägeli[1]) auch den Bacterien zugeschrieben.

Im Darmsaft fand Pregl[2]) keine Lactase.

Dasselbe Resultat erhielten Pautz und Vogel[3]) und Dastre,[4]) die weder im Pancreas, noch in der Leber und im Darmsaft Lactase finden konnten. Andererseits fanden Röhmann und Lappe[5]) Lactase im Darm des Kalbes und Hundes, nicht aber des Ochsen.

Portier[6]) bestätigt und erweitert die Röhmann'schen Befunde; Pancreas enthielt nie Lactase; dagegen fand er sie im Darm junger, weniger in dem ausgewachsener Thiere; bei alten fehlte sie, desgleichen bei Vögeln.

Andererseits hat Weinland[7]) im Hundepancreas, besonders nach Milchfütterung, Lactase auffinden können.

1) Nägeli, Die niederen Pilze. 1882. S. 12.
2) Pregl, Pflüg. A. 61. 382.
3) Pautz und Vogel, Z. f. Biol. 32. 304 (1895).
4) Dastre, Archives d. physiol. 1890. 103.
5) Röhmann und Lappe, Chem. B. 28. 2506 (1895).
6) Portier, C. R. soc. biol. 1898. 387.
7) Weinland, Z. f. Biol. 38. 606. Chem. Centralbl. 1899. I. 1002.

Achtzehntes Capitel.

Die Glucosidspaltenden Fermente.

Wenn wir die im einzelnen soeben besprochenen Thatsachen zusammenfassen, so finden wir, dass die Hefen vom gewöhnlichen Typus ausser diastatischen mit Sicherheit zwei Arten von Enzymen enthalten, von denen die eine Form, die Maltase und ihre Verwandten, die Maltose und ihr ähnlich configurirte Disacharide spalten, während die Invertase den Rohrzucker und die Raffinose zerlegt.

Vielleicht kommt als dritte selbstständige Form die Trehalase hinzu. In den Milchzuckerhefen findet sich an Stelle der Maltase die ganz anders wirkende Lactase, die leider in reiner Thätigkeit noch wenig erforscht ist.

Emil Fischer[1]) führt die specifische Wirksamkeit der Enzyme auf stereochemische Bedingungen zurück, in der Art, dass nicht nur die Structurverschiedenheiten, sondern auch die Verschiedenheiten der Configuration die Basis darstellen, auf der die specifische Thätigkeit der Enzyme beruht. Besonders wichtig für diese Betrachtungsweise sind seine Studien über die Wirkung der Enzyme auf die Glucoside, nicht nur die natürlich vorkommenden, sondern besonders auf die von ihm synthetisch erhaltenen einfachen Glucoside.

Durch Condensation von einfachen Hexosen (Glucose, Mannose, Sorbose, Fructose etc.) mit Alkoholen, besonders Methylalkohol unter Einwirkung von Salzsäure gelang es ihm, z. B. Methylglucoside dieser Zucker künstlich darzustellen. Bei dieser Condensation entstehen nun stets zwei Stereomere, die Fischer als α- und β-Glucoside unterscheidet, z. B. α-Methylmannosid und β-Methylmannosid aus der d-Mannose etc. Prüft man nun diese einfachen Glucoside in ihrem Verhalten gegen die Hefenenzyme, so kann man constatiren, dass von diesen ausschliesslich die α-Modification in den ursprüng-

1) E. Fischer, Z. ph. Ch. 26. 61.

lichen Zucker gespalten wird, während die β-Modification gegen die Hefenenzyme völlig resistent ist.

Hieraus folgt mit Sicherheit, dass die Wirkung der Enzyme durch Verschiedenheiten im stereochemischen Bau der Glucoside bedingt ist. Dies wird weiterhin dadurch gestützt, dass die Glucoside der nicht gährfähigen Zucker, also aller Pentosen und Heptosen, sowie sämmtlicher l-Zucker, z. B. auch der l-Glucose gegen die Hefenenzyme beständig sind.

Während aber diese zum Theil structurell, zum Theil stereochemisch verschiedenen Glucoside überhaupt nicht durch irgendwelche Enzyme, die bis jetzt bekannt sind, spaltbar sind, haben die gegen die Hefenenzyme beständigen β-Glucoside der gährfähigen Zucker die Eigenschaft, von einem anderen Ferment in ihre Componenten zerlegt zu werden, nämlich vom Emulsin, das wir weiter unten ausführlich besprechen werden. Die β-Glucoside theilen diese Eigenschaft mit einer grossen Anzahl natürlich vorkommender Glucoside.

Denn von allen diesen Glucosiden wird, soweit bekannt, nur eins von Hefenenzymen angegriffen, nämlich das Amygdalin der bitteren Mandeln. Das Amygdalin wird durch Emulsin in Benzaldehyd, Blausäure und Traubenzucker zerlegt. Dagegen spaltet Hefeinfus nur ein Molecül Traubenzucker ab, während der Rest des Glucosids nunmehr einen eigenartigen Körper, das Mandelnitrilglucosid [1]) darstellt, das, gegen Hefeenzyme beständig, durch Emulsin weiter in Benzaldehyd, Blausäure und Traubenzucker zerlegt wird. Alle übrigen natürlichen Glucoside dagegen sind überhaupt gegen Hefenenzyme völlig unempfindlich, während sie zum Theil durch Emulsin zerlegt werden. Sie entsprechen also in dieser Beziehung völlig den β-Glucosiden Fischer's.

Unter Hefenenzymen verstehen wir hier im wesentlichen die Maltasen und die Invertase; die Trehalase ist zu wenig erforscht, doch liegt es nahe, sie mit den genannten Hefeenzymen für verwandt zu erachten, da Trehalose durch Emulsin nicht verändert wird (Bourquelot).[2])

Wir sehen also, dass es für die complicirten Derivate der Zucker zwei in ihrer Wirksamkeit völlig verschiedene Reihen von Fermenten giebt, deren Verschiedenheiten auf stereochemischer Basis beruhen; ihre Wirksamkeit wird am leichtesten geprüft an den zwei stereomeren Reihen der α- und β-Glucoside; ich möchte mir deshalb

1) E. Fischer, Chem. B. 28. 1508 (1895).
2) Bourquelot, Bull. soc. mycolog. IX. 189. S. A.

den Vorschlag erlauben, diese beiden Reihen einfach als α- und β-Fermente zu unterscheiden. Wir hätten dann folgende Gruppen.

I. α-Fermente:
- Invertase,
- Maltasen (incl. der Melibiase),
- Trehalase (?).

II. β-Fermente:
- Emulsin,
- Lactase (?).

An das Emulsin schliessen sich dann naturgemäss die übrigen glucosidspaltenden Fermente an.

Emulsin: früher auch Synaptase genannt, ist ein Enzym, das das in den Mandelkernen vorkommende Glucosid Amygdalin in Traubenzucker, Benzaldehyd und Blausäure spaltet.

Das Amygdalin wurde 1830 von Robiquet und Boutron-Chalard [1]) entdeckt und dargestellt. Dieselben haben auch die Eigenschaft der bitteren Mandeln beschrieben, bei der Berührung mit Wasser Blausäure und einen aromatisch riechenden Stoff abzuspalten.

Liebig und Wöhler [2]) haben dann das Amygdalin genau untersucht (1837) und der eiweissartigen Substanz, die seine Zersetzung in Traubenzucker, Benzaldehyd und Blausäure bewirkt, den Namen Emulsin gegeben.

Robiquet [3]) hat sodann als wirksames Princip eine nicht coagulirende, durch Tannin fällbare Substanz beschrieben, die er Synaptase nannte.

Vorkommen des Emulsins: Das Emulsin, das Liebig und Wöhler nur in den Mandeln auffinden konnten, ist sowohl in den höheren Pflanzen, als auch unter den Kryptogamen weit verbreitet; doch scheinen die Emulsine dieser verschiedenen Pflanzengruppen verschieden zu sein (Hérissey). [4])

Bei Phanerogamen findet sich Emulsin ausser in den Mandeln vor Allem in den Blättern des Laurocerasus und in den Samen verschiedener Rosaceen (Lutz). [5]) In diesen Pflanzen finden sich dem Amygdalin ähnliche Glucoside, z. B. das Laurocerasin u. a. m.,

1) Robiquet und Boutron-Chalard, Ann. Chim. Phys. (2). 44. 352 (1830).

2) Liebig und Wöhler, Ann. d. Pharm. XXII. 1 (1837). Poggendorff's Ann. 41. S. 345.

3) Robiquet, Journ. d. Pharm. et Chim. 24 (1838). S. 196.

4) Hérissey, Recherches sur l'Émulsine. Thèse. Paris. 1899. S. 6.

5) Lutz, Bull. soc. botan. d. France. 44. 26. 263 (1897). cit. n. Hérissey, l. c.

die durch Emulsin in analoger Weise gespalten werden, das sich gleichzeitig in den Pflanzen vorfindet. Emulsin spaltet auch andere Glucoside, z. B. Arbutin, Salicin, Coniferin, Populin (s. u.). Blausäure und Benzaldehyd liefert ferner nach Poleck[1]) die Schleichera trijuga, von der das Makassaröl gewonnen wird, das Blausäure enthält. Amygdalin spalten ferner die Extracte zahlreicher Pflanzen: Monotropa, Polygala (Bourquelot),[2]) Isatis alpina (Bréaudat)[3]) und einer sehr grossen Anzahl anderer, darunter Malus communis, Hedera helix etc. (Hérissey).[4]) Zahlreiche andere Pflanzen liefern bei der Destillation mit Wasser nur Blausäure, die aus Glucosiden abgespalten erscheint (Jorissen),[5]) z. B. Aquilegia vulgaris, Ribes aureum, Manihot utilissima (Pfeffer).[6])

Im Leinsamen fanden Jorissen und Hairs[7]) ein besonderes Glucosid, das sie Linamarin nennen und das durch ein besonderes Emulsin in Blausäure, einen gährfähigen Zucker und einen ketonartigen Körper gespalten wird. Das Emulsin der Mandel ist ohne Wirkung, während umgekehrt der Leinsamenextract Amygdalin zerlegt(?) (Hérissey l. c., S. 25).

In Kryptogamen wurde das Emulsin durch Bourquelot[8]) bekannt, der es in Aspergillus niger auffand. Gleichzeitig fand es Gérard[9]) in Penicillium glaucum. Bourquelot[10]) konnte es in sehr vielen Pilzen, besonders holzbewohnenden nachweisen; die Untersuchungen wurden dann von Hérissey[11]) fortgesetzt. Fast alle untersuchten parasitischen Pilze der verschiedensten Gattungen spalteten Amygdalin.

Hérissey fand es auch in Moosen.[12])

Auch Bacterien sollen emulsinähnliche Fermente besitzen; sie spalten Amygdalin unter Entstehung von Benzaldehyd, doch ist Glucose nicht nachweisbar (Gérard[13]), Fermi und Montisano).[14])

---

1) Poleck, Pharmac. Ztg. 1891. 314.
2) Bourquelot, Journ. d. Pharm. et. Chim. (5). 30. 433 (1894).
3) Bréaudat, Bull. soc. biol. (10). V. 1031 (1898).
4) Hérissey, l. c. S. 22 ff.
5) Jorissen, Journ. d. Pharm. d'Anvers. 1894. 23.
6) Pfeffer, Pflanzenphysiologie. Leipzig 1881. S. 307.
7) Jorissen und Hairs, Bull. Acad. Belg. (9). 21. S. 518 (1891).
8) Bourquelot, C. R. soc. biol. 1893. 653. 804.
9) Gérard, ibid. 1893. 651.
10) Bourquelot, Bull. soc. mycol. X. 49 (1894). S. A.
11) Hérissey, l. c. S. 8 ff.
12) Hérissey, C. R. soc. biol. 1898. 532. Bull. soc. mycol. XV. S. A.
13) Gérard, Journ. Pharm. et Chim. (6). III. 233 (1896).
14) Fermi und Montisano, Apothekerzeitg. IX. 583 (1894).

Auch im Thierreich scheinen emulsinähnliche Fermente vorzukommen.

Nach Moriggia und Ossi[1]) wirkt Amygdalin toxisch; sie nehmen zur Erklärung eine fermentative Spaltung im Darmcanal an; Fubini[2]) bestätigt ihre Behauptung.

Gérard[3]) hat im Darmsaft eines Kaninchens, das er mehrere Tage mit Salicin gefüttert hatte, ein Emulsin nachgewiesen, während das Pancreas kein Emulsin enthielt.

Bei Cephalopoden konnte Bourquelot[4]) kein Emulsin finden, ebenso wenig konnte er die Angabe von Staedeler,[5]) dass Speicheldiastase Salicin spaltet, bestätigen. Er nimmt vielmehr an, dass eine eventuelle Spaltung des Salicins im Speichel durch Microorganismen bedingt sei. Dasselbe gilt von der Einwirkung auf Amygdalin, die Bougarel[6]) beobachtet hat.

Art des Auftretens des Emulsins in der Pflanze: Die Beziehungen des Amygdalins und Emulsins zu den Geweben der sie producirenden Pflanzen ist vielfach untersucht worden. Von vornherein musste man annehmen, dass sie beide getrennt sein müssten, da die Mandeln erst beim Anrühren mit Wasser die Blausäureabspaltung zeigten.

Thomé[7]) nahm an, dass das Emulsin nur in den bitteren Mandeln vorkäme, Amygdalin auch in den süssen. Pfeffer[8]) wies dem Emulsin seinen Platz im Protoplasma der Zelle an, während das Amygdalin im Zellsaft vorhanden sein sollte. Portes[9]) fand das Emulsin im Embryo des Samens, das Amygdalin im Cotyledo. Johansen[10]) fand das Emulsin in allen Gefässbündeln und zwar auch der süssen Mandeln; der Embryo selbst enthielt kein Amygdalin, sondern nur Emulsin.

Dann hat Guignard[11]) umfangreiche Untersuchungen über das Vorkommen von Emulsin angestellt.

---

1) Moriggia und Ossi, Atti acad. Lincei 1875. cit. n.

2) Fubini, Arch. ital. d. Biol. XIV. 436 (1891).

3) Gérard, Journ. d. Pharm. et Chim. (6). III. 233 (1896). C. R. soc. biol. 48. 44 (1896).

4) Bourquelot, Digestion chez les Mollusques. Thèse. Paris 1885. 47. cit. n. Herissey, l. c.

5) Staedeler, Journ. pr. Ch. 72. 250 (1857).

6) Bougarel, De l'amygdaline. Thèse de pharm. Paris 1877. cit. n. Hérissey, l. c.

7) Thomé, Botan. Ztg. 1865. 240.

8) Pfeffer, Pflanzenphysiol. I. S. 307.

9) Portes, Journ. d. pharm. et chim. 26. 410 (1877).

10) Johansen, Annal. d. sciences nation. d. Botanique. (7). VI. 118 (1887).

11) Guignard, Journal de Botan. IV. S. 3; 19 (1890). J. d. pharm. u. chim. (5). 21. 233 (1890).

Mit Hilfe einer Farbenreaction, nämlich einer rot-orange Färbung durch Millon's Reagens, konnte er das Emulsin mikrochemisch identificiren. So fand er diese Reaction in den Blättern von Laurocerasus, nicht aber in den sonst sehr ähnlichen Blättern von Cerasus Lusitanicus.

Er fand in den Blättern und Samen anatomisch wohlcharacterisirte Fundstellen für das Emulsin und zwar in bestimmten Zellgruppen, die er isoliren konnte, und die wirksames Ferment lieferten.

Bedingungen der Emulsinbildung: Für die Samen von Cerasus avium hat Hérissey[1]) nachgewiesen, dass sich das Emulsin eher bildet, als das Amygdalin.

Hérissey (l. c., S. 33) hat ferner die Bedingungen der Emulsinbildung bei Aspergillus niger untersucht. Seine Hauptresultate sind, dass die Emulsinmengen schwanken: um so geringer werden, je mehr sich der Pilz der Fruchtbildung nähert, dass das Ferment ferner bei reichlicher Ernährung verschwindet, beim Hungern dagegen wieder auftritt.

Erwähnt sei beiläufig, dass nach den Befunden von Puriewitsch[2]) die lebenden Schimmelpilze ausser anderen Glucosiden auch Helicin spalten; dann aber durch den gebildeten Salicylaldehyd zu Grunde gehen; dagegen verläuft die Amygdalinspaltung, wenn man die Lebensthätigkeit der Pilze nicht durch Chloroform lähmt, in der Weise anders, dass keine Blausäure, sondern Ammoniak und Mandelsäure entstehen.

Die Spaltung des Amygdalins durch Bacterien ist u. A. von Fermi und Montisano[3]) untersucht worden. Sie fanden diese Fähigkeit bei verschiedenen Arten, jedoch liess sich niemals Zucker unter den Spaltproducten nachweisen; auch zerlegten die Bacterien das Amygdalin nicht, wenn ihnen Zucker im Nährsubstrat zur Verfügung stand; wir haben also nach diesen Befunden auch hier ein Beispiel dafür, dass die Enzyme sehr häufig nur dann gebildet werden, wenn die Zerlegung des Materials von physiologischer Bedeutung für den fermenterzeugenden Organismus ist.

Darstellung und Eigenschaften des Emulsins: Emulsin ist in reinem Zustande nicht bekannt.

Robiquet[4]) erhielt seine Synaptase aus dem ausgepressten Saft von

---

1) Hérissey, l. c. S. 38.

2) Puriewitsch, Ber. d. d. botan. Ges. XVI. 368 (1898). Bull. soc. biol. (10). IV. 686 (1897).

3) Fermi und Montisano, Apoth.-Ztg. 1894. 583.

4) Robiquet, J. d. Pharm. et Chim. 24. 326 (1838).

Mandeln durch Fällen der beigemengten Eiweissstoffe durch Essigsäure, weitere Fällungen mit Bleiacetat und schliesslich mit Alkohol.

Thomson und Richardson[1]) schüttelten die Fettstoffe mit Aether aus und fällten die übrig bleibende Flüssigkeit mit Alkohol.

Ortloff[2]) liess die Fette ranzig werden, filtrirte und fällte mit Alkohol, löste in Wasser und fällte nochmals. Aehnlich verfuhr Buckland W. Bull.[3])

Schmidt[4]) fand, dass Emulsinlösungen durch Essigsäure und Ferrocyankalium nicht getrübt werden, und sieht darin ein Mittel, das Emulsin von den beigemengten Eiweisssubstanzen zu trennen. Er gewann es dann durch Fällen mit Alkohol als weisses Pulver.

Hérissey[5]) extrahirte feingepulverte Mandeln mit Chloroformwasser, entfernte durch wenig Eisessig eiweissähnliche Beimengungen und fällte mit Alkohol.

Er erhielt das Emulsin so als weisses in Wasser lösliches Pulver. Es zeigte die üblichen Eiweissreactionen und war linksdrehend.

Analysen liegen von Ortloff, Bull, Schmidt vor, zeigen aber keine Uebereinstimmung.

Schmidt fand:

C 48,76
H 7,15
N 14,16
S 1,25.

Es enthält also in diesen Präparaten zweifellos noch Eiweissstoffe, ausserdem aber wahrscheinlich ein Araban(?), das mit Schwefelsäure Arabinose liefert, ebenso wie die Diastase (s. d.). Es geht durch Porcellanfilter hindurch, jedoch passirt das Aspergillusenzym besser, als das der Mandeln.

Es giebt mit Millon's Reagens eine rothorange, mit Orcin und Salzsäure eine violette Färbung. Letztere giebt auch Diastase, nicht aber Pepsin und Trypsin (Guignard).[6])

Das Emulsin des Aspergillus konnte Hérissey nicht von den anderen Enzymen des Pilzes trennen.

Wirkungen des Emulsins: Emulsin spaltet unter Wasseraufnahme: Amygdalin in 2 Mol. Glucose, Blausäure und Benzaldehyd.

$$C_{20}H_{27}NO_{11} = 2C_6H_{12}O_6 + HCN + C_6H_5CHO.$$

1) Thomson und Richardson, Ann. d. Pharm. 29. 180 (1839).

2) Ortloff, Arch. d. Pharmac. 48. 12 (1846). dort ältere Litteratur über die bitteren Mandeln und ihre Giftigkeit.

3) Bull, Ann. Chem. Pharm. 69. 145 (1849).

4) Schmidt, Dissert. Tübingen 1871.

5) Hérissey, l. c. S. 44 ff.

6) Guignard, Journal de botan. (1890). IV. S. 3; 19.

Das **Mandelnitrilglucosid**, das aus Amygdalin durch Hefeenzym entsteht[1]) in

1 Mol. Glucose, Blausäure, Benzaldehyd.

Das **Arbutin**[2]) der Ericaceen in

1 Mol. Glucose + Hydrochinon

$$C_{12}H_{16}O_7 = C_6H_{12}O_6 + C_6H_4(OH)_2.$$

Das Coniferin der Coniferen in

1 Mol. Glucose und Coniferylalkohol

$$C_{16}H_{22}O_8 = C_6H_{12}O_6 + C_{10}H_{12}O_3.$$

Das Glucovanillin in

Glucose und Vanillin

$$C_{14}H_{18}O_8 = C_6H_{12}O_6 + C_6H_3 \begin{cases} CHO \\ OCH_3 \\ OH \end{cases}$$

analog die Glucovanillinsäure in Vanillinsäure.

Das Salicin der Populusarten in Saligenin (Piria)[3])

$$C_{13}H_{18}O_7 = C_6H_{12}O_6 + C_6H_4 \begin{cases} OH \\ CH_2OH. \end{cases}$$

Analog dessen Oxydationsproduct Helicin in Salicylaldehyd.

Ferner Daphnin in Daphnetin, Aesculin in Aesculetin, Piceïn in Piceol, und Glucose.

Ferner spaltet das Mandelemulsin nach Hérissey noch das Gentiopicrin aus Gentiana lutea, sowie das Syringin und Phyllirin, sehr schwach das Ononin und Helleboreïn (E. Fischer).[4]) Dagegen ist es unwirksam auf Cyclamin, Apiin und Convallarin. Während nun aber diese letzteren auch von Aspergillusemulsin nicht angegriffen werden, zerlegt dieses die vom Mandelemulsin nur schwach angegriffenen Glucoside Ononin und Helleboreïn, sowie die gar nicht vom Mandelemulsin beeinflussbaren Populin und Phloridzin (Herissey).[5])

Beide sind ferner unwirksam auf Solanin, Hesperidin, Convallamarin, Convolvulin, Digitalin (crystallis.), Hederin, Quercitrin. Emulsin wirkt nicht auf Monobutyrin, ist also von der Lipase verschieden (Gérard).[6])

Theoretisch besonders interessant ist, dass Emulsin die β-Glucoside der gährfähigen Zucker spaltet, die der Maltase etc. unzugänglich

1) **E. Fischer**, Chem. B. 28. 1508 (1895).
2) **Kawalier**, J. pract. Ch. 58. 193 (1853).
3) **Piria**, Ann. Chem. Phys. (3). XIV. 257 (1845).
4) **E. Fischer**, J. phys. Ch. 26. 70 (1898).
5) **Hérissey**, l. c. S. 57 ff. vgl. **Bourquelot und Hérissey**, Bull. soc. mycol. XI. S. 199. 235 (1895). id. Journ. d. Pharm. et Chim. (6). II. 435 (1895). **Hérissey**, Bull. Soc. Biolog. 1896. 640.
6) **Gérard**, C. R. 124. 370 (1895).

sind, die von dem Hefeninfus spaltbaren α-Glucoside aber nicht angreift, woraus E. Fischer seine oben auseinandergesetzten theoretischen Deductionen über den Zusammenhang von stereochemischer Structur und Enzymwirkung gezogen hat. Eine besondere Wichtigkeit erlangt diese Beobachtung noch dadurch, dass Emulsin auch den Milchzucker in Glucose und Galactose spaltet, also der Lactase analog wirkt. Es giebt uns diese Thatsache ein gewisses Recht, in der Configuration des Milchzuckers Analogien mit den β-Glucosiden anzunehmen. Doch hat diese Annahme noch einen wunden Punkt. Hérissey hat nämlich die Spaltung durch das Mandelemulsin bestätigt, hat aber einen Abbau der Lactose durch Aspergillusemulsin absolut nicht erzielen können.

Wenn man also, die Richtigkeit dieser Beobachtung vorausgesetzt, nicht im Mandelemulsin noch eine beigemengte Lactase annehmen will, so liegen hier also gewisse Verschiedenheiten für die beiden Emulsine vor.

Hérissey hat noch in der Wirkungsgeschwindigkeit, speciell auf Arbutin, Unterschiede auffinden wollen.

Das Optimum der Wirkung des Emulsins liegt bei 45—50°,[1]) die Zerstörungstemperatur ist bei ca. 70° (Hérissey). Trocken kann man es stundenlang auf 100° erhitzen, ohne dass es zerstört wird (Bull l. c.).

Durch Alkalien wird es zerstört, durch Salzsäure u. a. Mineralsäuren nur inactivirt[2]); Essigsäure und Ameisensäure sind unwirksam (Bouchardat).[3])

Ebenso die meisten Neutralsalze, auch der Schwermetalle, nur einige, z. B. Ammoniumcarbonat, Kupfersulfat verzögern die Wirkung.

In Glycerin wirken Amygdalin und Emulsin nicht aufeinander (Schmidt).[4])

Die Wirkung anderer Fermente auf Emulsin ist unsicher, Trypsin ist jedenfalls wirkungslos. Im Magensaft ist es zunächst wirksam, da bei gleichzeitiger Einführung von Amygdalin und Emulsin in den Magen das Thier an Blausäurevergiftung stirbt; es wird aber bald vernichtet (Claude Bernard).[5])

Chloroform, Aether, Thymol etc. sind unwirksam, auch Blausäure.

---

1) Tamman, Z. ph. Ch. XVI. 271 (1892).
2) Jacobson, Z. ph. Ch. XVI (1892).
3) Bouchardat, C. R. XX. 111 (1845).
4) Schmidt, Diss. Tüb. 1871.
5) Cl. Bernard, Leç. pathol. expér. Paris 1890. S. 75.

Daraus, dass auch Chloral unwirksam ist, will Bougarel[1]) den Schluss ziehen, dass Emulsin kein Eiweisskörper ist, da diese mit Chloral feste Verbindungen eingehen.

Durch Tannin wird nach Hérissey (l. c., S. 81) das Emulsin ausgefällt, der Niederschlag bleibt indessen wirksam.

Gaultherase: Ein Enzym, das eine specifische Wirkung auf das Glucosid des Salicylsäuremethylesters ausübt, hat man in mehreren Pflanzen gefunden, in denen dieses Glucosid vorkommt.

Zuerst fand es Procter.[2])

Dann entdeckte es Schneegans[3]) in Betula-Arten und nannte es Betulase. Bourquelot[4]) fand es in Betula, Spiraea ulmaria und filipendula, in Monotropa Hypopitys etc. und auch in Gaultheria procumbens. Da man nun das Glucosid zuerst in der Gaultheria gefunden und Gaultherin genannt hat (Schneegans und Gerock),[5]) so nennt Bourquelot das dazugehörige Enzym Gaultherase. Es wirkt nicht auf Salicin und Amygdalin, ist also vom Emulsin verschieden. Beyerinck[6]) bestätigt diese Angaben und giebt ein Verfahren an, um durch Wasserextraction und Alkoholfällung zu einem wirksamen Gaultherasepräparat zu gelangen.

Myrosin: Das eigenartige, scharf riechende und schmeckende Princip mancher Cruciferen, besonders des schwarzen Senfsamens, hat schon frühzeitig die Aufmerksamkeit der Forscher erregt. Wie wir einer interessanten historischen Uebersicht von Spatzier[7]) entnehmen, ist das wirksame Princip das Senföl, wahrscheinlich schon Lefèbre im Jahre 1660, sicher aber Boerhave 1775 bekannt gewesen. Thibierge[8]) hat dann das Senföl zuerst aus dem Safte durch Destillation abgeschieden und den Schwefel darin aufgefunden, und Thomson[9]) hat seine Untersuchungen fortgesetzt und erweitert. Einen wichtigen Schritt vorwärts in der Erkenntniss des Vorganges thaten Boutron und Robiquet[10]) und Fauré,[11]) die die Entdeckung machten, dass

1) cit. n. Hérissey, l. c.
2) Procter, Americ. Journ. of Pharm. XV. 241. cit. n. Bourquelot, l. c.
3) Schneegans, Journ. d. Pharm. von Els.-Lothr. 1896. 17.
4) Bourquelot, Journ. d. Pharm. Chim. 1896. (Juni). S. A.
5) Schneegans und Gerock, Archiv d. Pharmacie Bd. 232. S. 437 (1894).
6) Beyerinck, C. f. Bact. (II). V. 425 (1899).
7) Spatzier, Pringsheim's Jahrb. f. wissensch. Botanik. 25. S. 93 (1893).
8) Thibierge, Journal de Pharmacie. V. 439 (1819).
9) Thomson, ibid. 448.
10) Boutron und Robiquet, Journ. d. Pharm. XVII. 279.
11) Fauré, ibid. 299.

das Senföl in den Samen nicht vorgebildet ist, sondern erst beim Anrühren mit Wasser entsteht. Auf das eigentümliche wirksame Princip dieser Umsetzung wurde dann von Boutron und Frémy[1]) hingewiesen.

Die eigentliche Entdeckung des Myrosins ist indessen Bussy[2]) zuzuschreiben. Er unterschied zuerst in der Emulsion des Senfsamens das wirksame Princip, das Ferment Myrosin von dem zu spaltenden Glucosid, dem myronsauren Kalium. Er wies auf die Beziehungen zu dem ähnlichen Emulsin hin, verkannte aber nicht die Verschiedenheiten der specifischen Wirkung.

Das myronsaure Kalium wurde dann von Ludwig und Lange[3]) genauer untersucht und eine, allerdings noch nicht ganz richtige Formel dafür angegeben. Die völlige Aufklärung des Chemismus verdanken wir Will und Körner.[4]) Danach zerfällt das Glucosid myronsaures Kalium unter dem Einfluss des Myrosins in Traubenzucker, saures schwefelsaures Kali und Allylsenföl, nach der Formel:

$$C_{10}H_{18}KS_2O_{10} = C_6H_{12}O_6 + KHSO_4 + C_3H_5N = C = S.$$

Es geht also aus der Formel nicht hervor, dass die Elemente des Wassers in den Process mit eingehen; danach hätten wir also kein Recht, den Process einfach als einen hydrolytischen zu bezeichnen. Trotzdem schreibt man allgemein das Myrosin den hydrolytischen Fermenten zu, da der Vorgang ausschliesslich in wässeriger Lösung vor sich geht, und nimmt wohl eine intermediäre Aufnahme der Elemente des Wassers an.

Das Ferment, das überall das Gleiche zu sein scheint, wo es in den Cruciferen vorkommt (Smith),[5]) ist in annähernd reinem Zustande nicht isolirt,[6]) zeigt indessen im Grossen und Ganzen die üblichen Fermentreactionen. Die Farbenreactionen, durch die man es in den Pflanzen nachzuweisen sucht (s. u.), sind wohl kaum auf das Ferment selbst, sondern auf ständige Beimengungen, besonders von Eiweisskörpern zurückzuführen. Auch seine Wirksamkeitsbedingungen sind ganz analog denen anderer Fermente. Doch ist es nach Schmidt[7]) schon bei 0° wirksam.

---

1) Boutron und Frémy, Lieb. Ann. d. Chem. u. Pharm. 34. 230 (1840).
2) Bussy, Liebig's Ann. d. Chem. u. Pharm. 34. 223 (1840).
3) Ludwig und Lange, Zeitsch. f. Pharm. III. 430. 577. cit. n.
4) Will und Körner, Lieb. Ann. 125. 257 (1863).
5) Smith, Z. f. physiol. Ch. XII. 432 (1886).
6) s. Will und Laubenheimer, Liebig's Ann. 199. 162 (1879).
7) Schmidt, Chem. B. X. 187 (1877).

Vorkommen des Fermentes: Nachdem zuerst die Entstehung von Senföl im schwarzen Senfsamen (Sinapis nigra) entdeckt war, suchte man derartige schwefelhaltige Oele in anderen Pflanzen, ohne sich zunächst um die Art ihrer Bildung zu kümmern.

So fand Senföl im Meerrettigöl Hubatka,[1]) in den Wurzeln von Alliaria Wertheim,[2]) ein etwas vom Allylsenföl verschiedenes Product Simon[3]) in Cochlearia officinalis beim Anrühren des alten, nicht mehr riechenden Krautes mit frischem, myrosinhaltigem Senfmehl. Es wurde später von A. W. Hofmann[4]) als secundäres Butylsenföl indentificirt. Schliesslich fand Pless[5]) in zahlreichen Cruciferensamen Senföle, die aber nicht fertig darin gebildet sind. In anderen Pflanzen konnte Vollrath[6]) es auffinden, nämlich in Resedaarten.

Später indessen begnügte man sich nicht mehr mit dem einfachen Nachweis der Senföle, sondern suchte das Glucosid und das Ferment jedes für sich auf. Hier sind besonders die systematischen Arbeiten von Guignard[7]) und Spatzier[8]) zu erwähnen, die das Ferment in vielen Pflanzen und deren Organen suchten und fanden.

Von den Glucosiden, um diese vorwegzunehmen, sind nur zwei bekannt, das myronsaure Kalium, das ausser im schwarzen Senfsamen noch u. a. in Brassica, Capsella und Cochlearia vorkommt, und das Sinalbin des weissen Senfs, das von Will und Laubenheimer[9]) genauer untersucht ist. Es ist dem myronsauren Kalium ähnlich, aber complexer gebaut.

Die übrigen Glucoside der Cruciferen und der anderen Pflanzen, die bei der Myrosinspaltung Senföle und Traubenzucker liefern, sind noch nicht bekannt; dass es sich aber auch hier um Glucoside handelt, hat Spatzier dadurch nachgewiesen, dass er überall bei der Fermentwirkung die Abspaltung von Zucker darthat.

Alle diese Glucoside werden also von Myrosin gespalten, dagegen greift es weder α- noch β-Methylglucosid an (E. Fischer).[10])

Cheiranthus Cheiri (Goldlack) enthält zwar Myrosin, aber kein Glucosid.

Zum Nachweise des Fermentes in den Pflanzen bedient sich

1) Hubatka, Lieb. Ann. **47.** 157 (1843).
2) Wertheim, Lieb. Ann. **52.** 52.
3) Simon, Poggend. Ann. **50.** 377 (1840).
4) A. W. Hofmann, Chem. Ber. VII. 509 (1874).
5) Pless, Lieb. Ann. **58.** 36 (1846).
6) Vollrath, Arch. d. Pharm. (II) **148.** 156 (1871).
7) Guignard, Journal de botan. 1890. 385.
8) Spatzier, Pringsheim's Jb. **25.** S. 39 (1893).
9) Will und Laubenheimer, Lieb. Ann. **199.** S. 162 (1879).
10) E. Fischer, Chem. B. **27.** 3483 (1894).

Spatzier des characteristischen Geruchs, indem er dem zu untersuchenden Pflanzensaft etwas myronsaures Kalium hinzufügt. War etwa der Geruch schon vorher vorhanden, so entfernt er das schon gebildete Oel durch gelindes Erwärmen, und prüft dann erst. Auf diesem Wege gelang es ihm nachzuweisen, dass die meisten Cruciferen sowohl in der Pflanze selbst, als auch im Samen Myrosin enthalten; indessen fehlt es z. B. bei Capsella bursa Pastoris. Ausserdem fand er es in der Epidermis der oberirdischen Theile und im Samen bei einigen Resedaceen, nur im Samen bei einigen Violaceen und Tropaeolaceen.

Soviel über die Verbreitung des Fermentes. Seine Localisation und die Art seiner Secretion hat zuerst Guignard[1]) genauer untersucht. Er fand durch mikrochemische Reactionen, dass es seinen Sitz hat in besonderen, zerstreuten Zellen, auf die zuerst Heinricher[2]) aufmerksam gemacht hatte, die weder Stärke, noch Fett oder Chlorophyll enthalten, aber starke Eiweissreactionen geben, und die er „Eiweissschläuche“ genannt hatte. Sie enthalten granulirte Massen, die durch Alkohol coaguliren und mit Millon's Reagens sich intensiver färben als Protoplasma. Er fand diese Zellen überall zerstreut, am reichsten daran zeigten sich die Samen. Das Glucosid wird in anderen Zellen abgelagert. Er konnte das Ferment besonders leicht aus dem Goldlack isoliren, wo es im Pericyclium des Stammes sehr reichlich abgelagert ist.

Spatzier (l. c.) hat dann diese Untersuchungen fortgeführt. Mit Hilfe von einigen Farbenreactionen, besonders Orceïn und Salzsäure, sowie durch die Geruchsreaction fand er folgendes:

Die „Myrosinschläuche“ liegen entweder verstreut, oder aber, was häufig vorkommt, sie sind im engsten Connex mit den Gefässbündeln und lassen sich mit diesen isoliren; z. B. bei Cheiranthus Cheiri; dann enthält der Rückstand, der keine Gefässbündel und keine Schläuche mehr enthält, auch kein Myrosin mehr. Capsella, die kein Ferment hat, zeigt auch keine Schläuche.

In den Samen liegen sie ebenso angeordnet wie in den fertigen Pflanzen, also entweder diffus oder im Procambium. Aber während in den entwickelten Pflanzen das Myrosin gelöst ist, findet es sich in den Samen in festen Körnchen. Glucosid und Ferment sind meist beide im Embryo vorhanden, doch kommen davon Ausnahmen vor.

Die Fermentbildung ist unabhängig von der Belichtung.

---

1) Guignard, Journal de botanique. 1890. S. 385.

2) Heinricher, Mittheil. a. d. bot. Inst. Grag 1886. cit. n. Spatzier l. c.

Rhamnase (Rhamninase) nennt man ein Enzym, das ausschliesslich in den Samen von Rhamnus infectoria (Avignonkörner, Gelbbeeren) vorkommt, und von Marshall Ward und Dunlop[1]) untersucht worden ist. Die Früchte enthalten ein Glucosid, Xanthorhamnin, dem man die Formel $C_{48}H_{66}O_{29}$ zuschreibt. Behandelt man das Fruchtfleisch mit einem Extract der Samen, so spaltet sich das Glucosid in Rhamnin (Rhamnetin) und Glucose. Das Ferment hat seinen Sitz in der Raphe der Samen, deren Zellen eine fettig glänzende, farblose Substanz enthalten. Das Glucosid ist, wie stets, in anderen Zellen abgelagert.

Das Ferment wird durch Kochen zerstört. Ch. und J. Tanret[2]) haben dann weiterhin gefunden, dass der Glucosid sich dabei in Rhamninose und andere noch nicht näher untersuchte Producte spaltet. Die Rhamninose soll ein Trisacharid sein, das sich in zwei Mol. Rhamnose (Methylpentose) und ein Mol. Galactose spalten lässt. Es wäre hier also das erste „Glucosid" entdeckt, das nicht Glucose unter seinen Spaltproducten zählt; indessen steht dieser Befund mit dem von Ward und Dunlop nicht im Einklang, die Glucose fanden.

Das Enzym der Indigobildung: Während man bis vor kurzem allgemein die Spaltung des Glucosides Indican in Indigweiss und Indiglucin auf die Thätigkeit von Microben zurückgeführt hatte, scheint nach den interessanten Versuchen von v. Lookeren-Campagne[3]) und Bréaudat[4]) hier ein Enzym eine Rolle zu spielen. Es gelang ersterem bei Indigofera tinctoria, letzterem bei Isatis alpina und einigen anderen indigoliefernden Pflanzen einerseits die typische Spaltung unter dem Einfluss von Chloroformwasser, wodurch Bacterien ausgeschaltet werden müssen; andererseits war die Spaltung nach vorhergehendem Erhitzen der Blätter resp. Kochen des Saftes nicht mehr zu erzielen. Bréaudat nimmt die successive Wirkung eines hydrolytischen Fermentes an, das die Spaltung zu Indigweiss und Indiglucin vollzieht, und einer Oxydase, die das Indigweiss zu Indigblau oxydirt.

Andere glucosidspaltende Fermente: Es liegt uns noch ob, einige andere glucosidspaltende Fermente kurz zu erwähnen, die noch sehr mangelhaft untersucht sind.

1) Marshall Ward und Dunlop, Annals of botany. I. (1887). S. 1.

2) Ch. und J. Tanret, Soc. Chim. de Paris. cit. n. Rev. gén. d. sciences. 1900. S. 100.

3) v. Lookeren-Campagne, Landw. Versuchstat. 43. 401 (1894). cit. n. Koch's Jb. 1894. S. 289.

4) Bréaudat, C. R. 127. 769 (1898).

Das Glucosid der Krappwurzel (Rubia tinctoria), die Ruberythrinsäure, wird durch ein gleichzeitig darin enthaltenes Ferment, das Erythrozym, in Alizarin und Glucose gespalten.[1] Emulsin wirkt ähnlich, aber viel schwächer; auf Amygdalin ist andererseits das Ferment ohne Einfluss.

Andere beschreibt Schützenberger,[2] die das Phyllirin (aus Phillyrea latifolia) und Populin spalten; ein ferneres, das Tannin(?) spaltet. Ein Ferment, das nur Salicin spalten soll, fand Krauch[3] in Kürbissen. Ein „neues" glucosidspaltendes Enzym will Berg[4] aus Ecballium elaterium erhalten haben, das aus einem Glucosid das Elaterin abspalten soll und natürlich vor allen Dingen „Elaterase" getauft wird. Da es indessen auch Amygdalin spaltet, nebenbei auch Stärke und Rohrzucker, so dürfte man seine specifische Thätigkeit wohl dem Emulsin zuzuschreiben haben.

---

1) Schunck, J. pr. Ch. 63. 222 (1854).

2) Schützenberger, Die Gährungserscheinungen. Internat. wiss. Bibl. 1876. S. 271.

3) Krauch, Landwirthsch. Versuchstat. 23. 77.

4) Berg, Bull. soc. chim. (3). XVII. 85 (1897).

Neunzehntes Capitel.

Andere hydrolytische Fermente.

Fett spaltende Fermente.

Die lipolytischen Fermente, auch Steapsine[1]) oder Lipasen[2]) genannt, haben die Fähigkeit, Neutralfette zu spalten.

Die Fette sind Ester des Glycerins, eines dreiwerthigen Alkohols von der Formel $CH_2OHCHOHCH_2OH$, mit den sog. Fettsäuren, von denen die wichtigsten die Palmitinsäure $C_{15}H_{31}COOH$, die Stearinsäure $C_{17}H_{35}COOH$ und die ungesättigte Oelsäure $C_{17}H_{33}COOH$ sind. Die Fette selbst bezeichnet man dem zu Folge als Palmitin, Stearin und Oleïn.

Unter dem Einfluss der Fett spaltenden Enzyme werden sie in ihre Bestandtheile, Glycerin und freie Säure, zerlegt. Man kann also ihre Fett spaltende Thätigkeit dadurch erkennen und controliren, dass man die Säuren durch ihre Reaction auf Lacmus nachweist, und eventuell mit Laugen quantitativ bestimmt.

Am längsten bekannt ist die Fett spaltende Wirkung des pancreatischen Saftes.

Die erste Beobachtung eines Einflusses des Pancreas auf Fette rührt von Eberle[3]) her, der eine Emulgirung beobachtete.

Claude Bernard[4]) untersuchte diese Eigenschaft genauer. Er legte auf die Emulgirung den Hauptwerth und nannte deshalb die wirkende Kraft „ferment emulsif“.

Diese Emulsion ist aber eine secundäre Erscheinung, die überall an Fetten beobachtet werden kann, wenn sie zu einem geringen Theil verseift werden. Sobald eine Spur fettsaures Alkali zugegen ist, tritt die Emulsion beim Schütteln mit Wasser ein. Das Primäre bei der

---

1) Biedermann, Pflüg. A. 72. 157 (1898).
2) Hanriot, C. R. 123. 753 (1896).
3) Eberle, Physiologie der Verdauung. Würzburg 1834.
4) Cl. Bernard, Physiolog. expér. II.

Wirkung des Pancreasenzyms ist die Abspaltung von freier Fettsäure, die dann mit dem Natriumcarbonat des Darmsaftes die zur Emulgirung nöthige Seife bildet.

Die saure Reaction ist schon von Cl. Bernard beobachtet worden. Besonders schön lässt sie sich an neutraler ätherischer Butterlösung mit Hilfe von Lacmus beobachten.

Berthelot[1]) zeigte die Zerlegung von synthetisch hergestelltem Glycerinester, dem Monobutyrin, in Glycerin und Buttersäure. Das Ferment soll auch andere Säureester, z. B. Essigsäureester, zerlegen (Heritsch).[2])

Das Ferment ist im Pancreas in wechselnder Menge vorhanden, sechs Stunden nach der Mahlzeit am wenigsten, beim nüchternen Thier am meisten (Grützner).[3])

Die Versuche, das Ferment zu isoliren, sind noch nicht über den allerersten Anfang hinausgekommen. Durch Glycerinextraction hat Grützner[3]) Pancreasinfuse erhalten, die die lipolytische Function besitzen.

Die Schwierigkeit, das Ferment zu isoliren, beruht namentlich auf seiner ausserordentlichen Empfindlichkeit, besonders gegen Säuren, aber wie es scheint, auch gegen Kochsalz etc. Es ist deswegen auch nur aus ganz frischem Pancreas zu erhalten.

Eine Methode, seine Wirkung annähernd quantitativ zu schätzen, hat Grützner (l. c.) angegeben. Er zählt die Tropfenzahl einer Fermentlösung, die hinreichend ist, bekannte Mengen einer Mandelölemulsion zu spalten. Eine andere beruht auf der Verseifung von Monobutyrin und Titrirung der frei gewordenen Buttersäure (Hanriot und Camus).[4])

Das Ferment scheint nicht auf das Pancreas beschränkt zu sein.

Schmiedeberg[5]) isolirte aus Nieren, Leber und Blut sein Histozym, das sowohl Fette als Hippursäure zerlegen kann.

Hanriot[6]) fand Lipase im Blut und Serum fast aller untersuchten Thiere, und in der Leber, wo er sie mit Hilfe von Monobutyrin (s. o.) nachwies (Hanriot und Camus)[7]) und quantitativ bestimmte.

---

1) Berthelot cit. n. Gamgee, Phys. Ch. d. Verdauung dtsch.. von Asher und Beyer. 1897. S. 225.
2) Heritsch, Centralbl. med. Wiss. 1875. 449.
3) Grützner, Pflüg. A. XII. 302 (1876).
4) Hanriot und Camus, C. R. 124. 235 (1897).
5) Schmiedeberg, A. f. exp. Path. XIV. 379.
6) Hanriot, C. R. soc. biol. 48. 925. C. R. 123. 753.
7) Hanriot und Camus, C. R. 123. 831. 124. 235 (1897).

Im Darm der Fische ist sie nach Knauthe[1]) vorhanden.

Im Darm der Insecten, speciell des Mehlwurms (Tenebrio molitor) fand Biedermann[2]) ein sehr energisch lipolytisches Ferment.

Die Blutlipase soll nicht aus dem Pancreas stammen, da sie von der Pancreaslipase verschieden ist, besonders im Verhalten gegen Temperatureinflüsse und Alkalescenz (Hanriot).[3]) Die Hämolipase soll mitunter beim Diabetes mellitus vermehrt sein, dagegen u. a. bei Pneumonie, Carcinom, Icterus vermindert (Achard und Clerc).[4])

Im Magen fand eine Fettzerlegung, die aber wohl nicht fermentativer Natur sein kann (wegen der sauren Reaction), Ogata.[5])

Endlich sei erwähnt, dass Klug[6]) im Pancreas ein fettspaltendes Enzym gefunden haben will, das Kohlensäure und Wasserstoff, aber kein Methan abspalten soll. Er fand es aber nicht in jedem Pancreas.

Die Fettausnutzung im Organismus scheint nach Untersuchungen von Connstein[7]) in viel grösserem Maasse unter vorhergehender Spaltung, nicht durch blosse Emulgirung vor sich zu gehen, als man früher annahm. Dabei dürften wohl Fermente eine grosse Rolle spielen.

Lipolytische Pflanzenfermente: Das Auftreten von Fetten als Reservestoff in den Samen und ihre Auflösung im Keimungsprocess wurde zuerst von Mulder[8]) beobachtet, von Sachs[9]) genauer untersucht, der annahm, dass sich zuerst Stärke aus dem Fett bildet, was von Fleury[10]) widerlegt wurde.

Die erste Angabe, dass bei der Keimung der Samen verschiedener Pflanzen ein Fett spaltendes Enzym vorhanden sei, rührt von Müntz[11]) her, der das Auftreten von Fettsäuren constatirte, und wurde von Schützenberger[12]) bestätigt.

---

1) Knauthe, Du Bois A. 1898 (Verh. phys. Ges.). S. 149.
2) Biedermann, Pflüg. A. 72. S. 157 (1898).
3) Hanriot, C. R. 124. 778 (1897).
4) Achard und Clerc, C. R. 129. 781 (1899).
5) Ogata, Du Bois Arch. 1881. 515.
6) Klug, Pflüg. A. 70. 329.
7) Connstein, Pflüg. A. 65. 473. 69. 76. s. s. Zusammenfassung: Medicinische Woche. 1900. No. 15.
8) Mulder, Chemie des Bieres, übers. v. Grimm. S. 222.
9) Sachs, Botan. Ztg. 1859. 178. 1862. 242.
10) Fleury, Annal. d. Chim. (4). IV. 38 (1865).
11) Müntz, Annales de Chimie. [4]. XXII. (1871). S. 472.
12) Schützenberger, Die Gährungserscheinungen. Internat. wiss. Bibl. 1876. S. 263.

Die Verseifung der Pflanzenfette bei der Fäulniss hatten schon Boussingault[1]) und Pelouze[2]) beobachtet.

Green[3]) stellte aus den keimenden Samen von Ricinus communis durch Glycerin oder Kochsalzextraction mit nachfolgender Dialyse wirksame Enzymlösungen her, die bei 40° in kurzer Zeit aus Ricinusöl freie Fettsäuren abspalteten. Erwärmen zum Sieden zerstörte das Ferment. Säuren und Alkalien machen es unwirksam, ohne es zu zerstören.

Es ist nicht im Embryo, wie Müntz annahm, sondern nur im Endosperm aufgespeichert. In ruhenden Ricinussamen ist es nach Green als Zymogen vorhanden. Lumia[4]) fand Lipase in Kürbis, Ricinus und Cocosfrüchten.

Sigmund[5]) fand es in vielen anderen Samen, im ruhenden weniger als im keimenden Zustande. Er konnte aus dem Wasserextract durch Alkoholfällung ein wirksames Präparat gewinnen.

Auch in Mikroorganismen kommen Fett spaltende Fermente vor. So treten Verseifungen von Fettsäureestern bei allen Fäulnissprocessen ein.

Aus Penicillium hat Gérard[6]) eine Lipase gewonnen, desgleichen Camus;[7]) aus Aspergillus niger[8]) ebenfalls, in geringer Menge; ferner Biffen[9]) aus einem auf der Cocosnuss lebenden, zu den Hypocreales gehörigen Pilze. Das Mycel mit Kieselguhr zerrieben und unter Druck filtrirt, liefert ein Extract, das sowohl Cocosöl, als auch Monobutyrin spaltet. Das Enzym ist mit Alkohol fällbar, ohne seine Wirkung einzubüssen.

Es giebt auch noch einige andere Pilze, die nur auf fetthaltigen Nährböden wachsen, z. B. Empusa, Cordyceps, Cyclonium oleaginum (Brizi),[10]) Inzengaea asterosperma (Borzi).[11])

Eine enge Beziehung zwischen Lipasen und glucosidspaltenden Enzymen soll nach Sigmund[12]) vorhanden sein, der durch Emulsin

---

1) Boussingault, cit. n. Müntz, l. c.
2) Pelouze, Ann. d. chim. et Phys. (3). 45. 319.
3) Green, Proc. Roy. Soc. 48. 370 (1890).
4) Lumia, Staz. sperim. agrar. ital. 31. 397. Maly's Jb. 1899. 724.
5) Sigmund, Monatsh. f. Chemie. XI. 272 (1890).
6) Gérard, C. R. 124. 370 (1897).
7) Camus, C. R. soc. biol. 49. 192 (1897).
8) id. ibid. 230.
9) Biffen, Annals of Botany. XIII. 336 (1899).
10) Brizi, cit. n. Biffen l. c.
11) Borzi, Botan. Centralbl. 24. 14 (1885).
12) Sigmund, Monatsh. f. Chemie. Maly's Jb. 1892. 596.

Fette und durch Lipase Amygdalin gespalten haben will. Da er aber keine reinen Fermente anwandte, sind seine Versuche wenig beweiskräftig. Im Uebrigen sah Gérard (l. c.) keine Einwirkung von Emulsin auf Monobutyrin.

Auch Fett spaltende Bacterien existiren, z. B. Bacillus fluorescens non liquefaciens (Krueger).[1])

Von pathogenen Spaltpilzen sollen nach Sommaruga[2]) u. A. Cholera- und Typhusbacterien, auch der Pyocyaneus Fette spalten. Nach Sommaruga sind sogar alle Fett spaltenden Bacterien pathogen.

Die ammoniakalische Gährung des Harnstoffs.

Wenn man Harn an der Luft stehen lässt, so wird er alkalisch und nimmt einen intensiven Geruch an. Dass dieser von entstehendem Ammoniak herrührt, ist schon frühzeitig erkannt worden, z. B. von Boerhave.[3])

van Helmont[4]) brachte den Geruch bereits mit „Fermentprocessen", d. h. mit der Fäulniss zusammen. Nachdem man dann durch Prout[5]) die Zusammensetzung des Harnstoffs richtig erkannt und gefunden hatte, dass Harnstoff bei der Destillation in Ammoniak und Kohlensäure zerfällt, erklärten Fourcroy und Vauquelin[6]) die Bildung von Ammoniak durch die spontane Zersetzung von Harnstoff im Urin.

Proust[7]) gelang es zuerst, Harn vor dieser spontanen Gährung zu schützen und ihn lange unverändert aufzubewahren. Liebig[8]) nahm im Sinne seiner Zersetzungstheorie ein Ferment an. Man machte dann vielfach den Schleim, besonders den pathologischer Harne für diese Zersetzung verantwortlich.[9]) Dass in solchem alkalischen Harn Mikroorganismen sich finden, hat zuerst Shearman[10]) beob-

1) Krueger, C. f. Bact. VII. 467 (1890).

2) Sommaruga, Z. f. Hyg. XVIII. 441 (1894) (dort Litteratur).

3) Boerhave, Elementa chimiae. II. London 1732.

4) van Helmont, Opuscul. medic. inandita I. de Lithiasi. S. 27. cit. n. Leube l. c.

5) Prout, Annals of philos. XI. S. 352 (1818).

6) Fourcroy und Vauquelin, Ann. d. chim. 31. S. 48. 32. S. 80. 113.

7) Proust, ibid. IIe Sér. XIV. 257.

8) Liebig, Chem. Briefe. XV. 6. Aufl. 1878.

9) s. u. a. H. Fischer, Berl. klin. Woch. 1864. S. 18. Hankel, Schmidt's Jahrb. III. S. 1.

10) Shearman, Schmidt's Jahrb. 55. 276.

achtet. Aber erst durch die Arbeiten Müller's,[1]) Pasteur's[2]) und seines Schülers van Tieghem[3]) wurde ihre Bedeutung sicher gestellt. Pasteur konnte gekochten Harn in luftdicht verschlossenen Kolben unzersetzt aufbewahren, während er bei Luftzutritt sich zersetzte. van Tieghem fand constant Mikroorganismen im ammoniakalischen Harn, die er als Torulaceen bezeichnet. Er sah sie selten allein, meist mit Infusorien vergesellschaftet. Sie zersetzten auch Hippursäure. Dass die Keime von aussen her eindringen müssen, bestätigten auch die Versuche von Cazeneuve und Livon,[4]) die lebenden Thieren die Blase abbanden, dann exstirpirten und den Harn so unverändert aufbewahren konnten, auch wenn sie ihn künstlich alkalisch, eiweiss- oder zuckerhaltig gemacht hatten. Umgossen sie die Blase mit Paraffin, so fand zwischen Blasenwand und Paraffin Gährung in dem hinaus dialysirten Harn statt; nicht aber, wenn das Paraffin vorher sterilisirt war. Beim Oeffnen der Blase trat bald Gährung ein und es liessen sich Coccen nachweisen.

Auch Meissner[5]) fand, dass die Gährung bei Fernhaltung der Luft ausbleibt. Leube[6]) bemerkte, dass frischer normaler Harn keine Pilze enthält, und dass beim Hinstellen von Harn an verschiedenen Orten die Gährung zu verschiedenen Zeiten eintritt, je nach der Menge der Keime, die aus der Luft hineingelangen.

Miquel[7]) fand die Keime in der Luft weit verbreitet.

Auch bei den Gährungen innerhalb der Blase werden wohl meist die Keime von aussen hineingelangen, z. B. durch Katheterisiren, doch hält Leube[6]) ein Eindringen durch Ausscheidung aus der Niere nicht für ausgeschlossen.

Dass indessen die blosse Anwesenheit der Coccen nicht zur Auslösung der Fermentation hinreicht, zeigten die Befunde von Guiard,[8]) dass die Pilze in der gesunden Blase keine Gährung erzeugten. Die Pilze müssen also in der gesunden Blase schnell vernichtet werden,

1) Müller, J. pract. Ch. **81**. 452 (1860).

2) Pasteur, C. R. **50**. 849 (1860).

3) van Tieghem, C. R. **52**. 210. **58**. 210 (1864).

4) Cazeneuve und Livon, C. R. **85**. 571.

5) Meissner, cit. n. Leube l. c.

6) Leube, Zeitschr. f. klin. Med. III. 233 (1881). u. Virchow's Arch. **100**. S. 540.

7) Miquel, Bull. soc. chim. **29**. 387 (1878).

8) Guiard, Etude sur la transform. ammon. des urines. Thèse. Paris 1883. cit. n. Leube l. c.

während sie bei Erkrankungen der Schleimhaut (Cystitis) einen geeigneten Nährboden finden.

Miquel[1]) fand ausser dem „Micrococcus urinae" noch einen Bacillus ureae, der Erhitzen auf 90° verträgt, sowie später[2]) noch andere Urococcen, Urobacillen und eine Urosarcine. v. Jaksch[3]) fand polymorphe Bacterien, deren beste Thätigkeit sich bei ca. 33° entfaltet, und die zu ihrem Gedeihen eines Nährbodens bedürfen, der Phosphor, Schwefel, Kalium, Magnesium, sowie Harnstoff oder eine Anzahl anderer organischer Substanzen, z. B. Bernsteinsäure, Traubenzucker etc. enthält. Sie brauchen ferner freien Sauerstoff.

Leube[4]) hat dann in sehr exacter Weise, unter Anwendung reinen, ammoniakfreien, sterilisirten Harnstoffs die Bedingungen der Harnstoffgährung genau untersucht. Er züchtete die in ammoniakalischen Harnen auftretenden Bacterien in Reincultur und erhielt so acht bis zehn Arten, von denen sich vier als wirksam erwiesen, besonders ein Micrococcus ureae und ein Bacterium ureae.

Proteus erwies sich als unwirksam, wirksam dagegen war Lungensarcine. Dagegen fand Brodmeier[5]) den Proteus vulgaris sehr wirksam. Einen Urobacillus Schützenbergii beschreibt Cambier.[6])

Das Enzym der Harnstoffgährung (Urase): Ein ungeformtes Ferment, das dieselbe Harnstoff spaltende Wirkung hat, wie die besprochenen Pilzfermente, fand Musculus[7]) im Harn, und zwar besonders dem dickflüssigen, schleimigen, ammoniakalischen Cystitisharn. Durch Fällen dieses Schleimharnes mit Alkohol erhielt er das Enzym in trockenem Zustande und konnte es lange aufbewahren. Es wurde durch Säuren und Erwärmen auf 80° zerstört, dagegen durch Phenol nicht beeinträchtigt. Es wirkt ganz specifisch nur auf Harnstoff, den es in Ammoniak und Kohlensäure spaltet.

Es wirkt nach Ladureau[8]) auch im luftleeren Raum, bei 3 Atmosphären Druck, bei Gegenwart von Stickstoff, Wasserstoff, Kohlensäure etc.

---

1) Miquel, Bull. soc. chim. **31**. 391. **32**. 126 (1879).
2) Miquel, Annal. de Micrograph. I, II, III, V. cit. n. Flügge, Die Microorgan. 1896. VIII, IX. c. n. Koch's Jb. 1896; 1897.
3) v. Jaksch, Z. phys. Ch. V. 395.
4) Leube, Virch. Arch. **100**. 540.
5) Brodmeier, C. f. Bacter. XVIII. 380 (1895).
6) Cambier, Ann. d. Microgr. cit. n. Koch's Jahrb. 1893. 285.
7) Musculus, C. R. **78**. 132 (1874). Pflüg. Arch. XII. S. 214.
8) Ladureau, C. R. **99**. 877 (1884).

Lea[1]) konnte das Ferment nur aus dem schleimigen Bodensatz des Cystitisharns, nicht aber aus dem davon decantirten und filtrirten Harn durch Alkoholfällung erhalten. Es ist indiffusibel. Im Uebrigen bestätigt er die Angaben von Musculus. Pasteur und Joubert[2]) weisen nach, dass das Enzym nur dann sich findet, wenn die Harnstoff zersetzenden Pilze vorhanden sind, und nehmen an, dass diese Pilze das Ferment produciren. Nach Lea[1]) ist es an die lebenden Zellen fest gebunden, da das Filtrat dieses Bodensatzes keine Wirkung ausübt; erst wenn man die Zellen durch Alkohol tötet, wird das Enzym frei und durch Wasser ausziehbar.

Leube[3]) konnte durch Filtration seiner Reinculturen ebenfalls kein lösliches Ferment gewinnen. Die annähernde Isolirung der Urase gelang dann Miquel[4]) aus Reinculturen der verschiedenen Bacterien auf Peptonbouillon, die Ammoniumcarbonat enthält, durch Sterilisirung mittelst Porzellanfilter, jedoch nur bei Sauerstoffabschluss. Es ist ausserordentlich leicht zersetzlich; schon bei 50° wird es in wenigen Stunden zerstört. Alkohol etc. und freier Sauerstoff wirken sehr schädlich. Ihr Optimum liegt bei 50°.

Ueber die Spaltung von Harnsäure in Ammoniumcarbonat unter dem Einfluss von Bacterien berichten Leone und Sestini.[5]) Sie fanden, dass die ammoniakalische Gährung der Harnsäure durch dieselben Microben veranlasst wird, wie die des Harnstoffs. Gérard[6]) nimmt eine intermediäre Abspaltung von Harnstoff an (s. a. Harnstoff bildendes Ferment, S. 294).

Zerfall von Calciumformiat: Eine eigenthümliche Reaction, die zwar von Bacterien ausgeübt wird, ihrem Wesen nach jedoch eine reine und echte Fermentation zu sein scheint, ist die Aufspaltung von ameisensaurem Kalk in kohlensauren Kalk und Wasserstoff (Popoff,[7]) Hoppe-Seyler.)[8])

Sie geht nach der Formel

$$\begin{matrix} HCOO \\ HCOO \end{matrix} > Ca + H_2O = CaCO_3 + CO_2 + 2H_2$$

1) Lea, Journ. of physiol. VI. 136.
2) Pasteur und Joubert, C. R. 83. 5 (1876).
3) Leube, Virch. A. 100. S. 540.
4) Miquel, C. R. 111. 397 (1890).
5) Leone und Sestini, Landwirthsch. Versuchsstat. 38 (1891). S. 157.
6) Gérard, C. R. soc. biol. 1896. 516.
7) Popoff, Pflüg. A. X. 142.
8) Hoppe-Seyler, Pflüg. A. XII. 1.

vor sich. Dieser Process hat positive Wärmetönung, ist also exothermal;[1]) als echter Fermentprocess documentirt er sich ferner dadurch, dass er von dem Leben der Bacterien unabhängig ist, also auch nach dem Tode der Mikroben (z. B. durch Aether) fortdauert.

Ein Ferment, das Taurocholsäure und Hippursäure hydrolytisch spaltet, scheinen manche Bacterien abzusondern. Die Spaltung tritt auch ein, wenn die Bacterien durch Aether getötet sind. (Hoppe-Seyler).[2])

---

1) s. b. Berthelot, C. R. 59. 901 (1864).
2) Hoppe-Seyler, Pflüg. A. XII. 1.

Zwanzigstes Capitel.

Die Milchsäuregährung.

Die Entstehung von Milchsäure aus Zuckern ist zwar schon lange beobachtet, wurde aber in den älteren Perioden einfach mit den übrigen sauren Gährungen zusammengeworfen.

Später erkannte man dann allerdings, dass unter gewissen Bedingungen aus zuckerhaltigen Flüssigkeiten, z. B. Rübensaft, Fruchtsäften, Milch etc. durch spontane Gährung Milchsäure entsteht;[1]) es bot indessen grosse Schwierigkeiten, stets das gewünschte Resultat zu erzielen, während sehr häufig unbeabsichtigte und störende Processe anderer Art die Milchsäurebildung verdeckten oder hinderten. Bevor man zu der Isolirung der specifischen Mikroben gelangen konnte, war das Studium dieser Erscheinung also sehr mühselig. Boutron und Frémy,[2]) welche wohl mit als die Ersten sich genauer mit der Milchsäuregährung beschäftigt haben, fassten das Ferment im Liebig'schen Sinne auf und mussten demzufolge bei dem so häufigen Misslingen der Versuche, reine Milchsäuregährungen zu erzielen, eine Variabilität des Fermentes annehmen, das je nach den Umständen bald Milchsäuregährung, bald Processe anderer Natur auslösen könnte.

Pasteur[3]) zeigte dann, dass Alkoholgährung und Milchsäuregährung durchaus von einander zu trennende Processe sind.

Später klärten sich die Ansichten darüber. Wir wissen jetzt, dass auch die Milchsäuregährung im Connex steht mit der Anwesenheit lebender Mikroorganismen, und dass man bei Anwendung von Reinculturen alle jene störenden Nebenprocesse vermeiden kann.

---

1) s. z. B. Braconnot, Ann. Chim. Phys. 36. 116. Gay-Lussac und Pelouze, Ann. Chim. Phys. 52. 410 (1833).

2) Boutron und Frémy, Ann. Chim. Phys. (3.) II. 257 (1841).

3) Pasteur, Die Alkoholgährg. l. c. S. 38.

Die Mikroben der Milchsäuregährung wurden zuerst von Blondeau[1]) gesehen, aber in ihrer Bedeutung nicht erkannt. Dann war es besonders Pasteur,[2]) der die Organismen genauer studirte. In Reincultur stellte sie zuerst Lister[3]) dar. Den lange vergeblich angestrebten Beweis, dass Milch bei Luftabschluss steril erhalten werden kann, erbrachten Roberts[4]) und Meissner.[5]) Dann ist die biologische Seite der Frage mit Hilfe der Koch'schen Methoden von Hueppe[6]) grundlegend bearbeitet worden, worauf wir unten zurückkommen werden.

Der Chemismus der Reaction ist im Wesentlichen ein sehr einfacher. Aus den Hexosen bildet sich Milchsäure nach der Formel

$$C_6H_{12}O_6 = 2C_3H_6O_3$$

durch glatte Spaltung. Wir haben also hier einen der Myrosinspaltung analogen Fall vor uns, weil in dem Endresultat der Reaction der Aufnahme der Elemente des Wassers keine ersichtliche Rolle zusteht, so dass wir diesen Process nicht ohne Weiteres den hydrolytischen Spaltungen zuschreiben dürfen. Nach unserer Auffassung der Fermentwirkung wäre a priori ganz gut ein Fall denkbar, wo ein labiles Molecül unter Abgabe von Energie ohne Weiteres in sich zerfällt, so gut, wie einfachere Molecüle unter Bindung von Energie sich ohne Weiteres polymerisiren können. Indessen rechnet man ziemlich allgemein trotzdem die Milchsäurespaltung zu den hydrolytischen Processen, indem man eine intermediäre Aufnahme von Wasser annimmt, und diese Auffassung ist ebenfalls durchaus zulässig. Da sich die Frage experimentell wohl kaum entscheiden lässt, so hat es weiter keinen Zweck, theoretische Erörterungen darüber anzustellen, und wir wollen die Milchsäuregährung den hydrolytischen Fermentationen mit diesem Vorbehalt zurechnen.

Die entstehende Milchsäure ist fast stets die α-Oxypropionsäure

$$CH_3 \cdot CHOH \cdot COOH.$$

Nur Hilger[7]) erhielt einmal auch die β-Oxypropionsäure, die

---

1) Blondeau, Journ. d. Pharm. et Chim. XII. (1847) 244. 336.
2) Pasteur, C. R. 45. 913 (1857). 47. 224. 48. 337. s. a. Boutroux, C. R. 86. 615 (1878).
3) Lister, Pharmaceut. Journal VIII. 555 (1877/78).
4) Roberts, Philos. Transact. 164. 465 (1874).
5) Meissner, Göttinger Chir. Klin. cit. n. Hueppe, l. c.
6) Hueppe, Mitth. a. d. kaiserl. Gesundh.-Amt. II. 309 (1884).
7) Hilger, Ann. Chem. Pharm. 160. 336 (1871).

Aethylenmilchsaure $CH_2 OH CH_2 \cdot COOH$, die er durch Oxydation zu Malonsäure identificiren konnte.

Jedoch schwankt die Abart der entstehenden Aethylidenmilchsäure je nach der Natur des Erregers und des Substrates sehr erheblich.

Die häufigste „Gährungsmilchsäure" ist die racemische, inactive Form, jedoch entsteht auch häufig genug die r-Milchsäure, die Fleischmilchsäure des Muskels, deren Zinksalz linksdrehend ist.[1]) Sehr nahe verwandte Arten auf demselben Nährboden bilden so verschiedene Säuren, dieselben Arten auf verschiedenen Nährböden ebenfalls.[2])

Man darf wohl annehmen, dass in diesen Fällen durch die primäre Fermentation zunächst stets die inactive racemische Säure gebildet wird, dass aber gewisse Mikroben unter bestimmten Bedingungen im Stande sind, die l-Milchsäure weiterhin zu verzehren, so dass nur die d-Säure zurückbleibt. Dass sie auch aus fertiger racemischer Milchsäure dies vermögen, steht fest (Frankland und Mac Gregor).[3]) Die Entstehung von l-Milchsäure ist für einen Fall von Schardinger[4]) festgestellt worden. Er konnte durch Vereinigung mit r-Milchsäure die racemische Gährungsmilchsäure aus ihr darstellen.

Diese glatte Spaltung dürfen wir mit Sicherheit auf die Wirksamkeit eines Fermentes zurückführen, das allerdings bis jetzt noch nicht von den Zellen isolirt ist. Aber wenn irgendwo, so glaube ich, wird bei der Milchsäuregährung eine Erweiterung der so folgenschweren Buchner'schen Befunde möglich sein. Abgesehen von der Einfachheit der Reaction, die man durch Alkalien in derselben Weise rein chemisch vollziehen kann, ist gar kein teleologischer Grund einzusehen, warum die Mikroben eine solche Verschwendung ihres kostbaren Nährstoffes, des Zuckers, treiben sollten, ihn in ihrem Stoffwechsel nur bis zu einem noch mit relativ viel Spannkraft versehenen Spaltproduct abzubauen, anstatt ihn direct zu verbrennen, noch dazu einem Spaltproduct, dessen d-Componente sie nicht mehr verbrauchen können. Wir können uns vielleicht auf die Weise ein physiologisches Bild von der Milchsäurespaltung machen, wenn wir den Process folgendermaassen auffassen: Solche Mikroben, denen aus irgend welchen unbekannten Gründen der Nichtelectrolyt Zucker nicht assimilirbar ist, verwandeln ihn durch ein zu diesem physiologischen

1) s. z. B. Nencki und Sieber, C. f. Bact. IX. 304.
2) Litt. s. b. Flügge, Microorgan. 1896. S. 233.
3) Frankland und Mac Gregor, Journ. of the chem. soc. **63**. 1028 (1893).
4) Schardinger, Monatsh. f. Chem. XI. 545 (1890).

Zwecke, wie das stets der Fall ist, producirtes Enzym, das ihn in racemische Milchsäure spaltet.

Wie ebenfalls allgemein, wird dieses Enzym einen grossen Ueberschuss von assimilirbarem Nahrungsvorrath, in diesem Falle dem Electrolyten Milchsäure schaffen. Diese dient nun als Nährstoff in der Weise, dass entweder beide optischen Antipoden gleichmässig weiter verzehrt werden; dann restirt ein Ueberschuss von racemischer Milchsäure; oder die Zelle verzehrt nur den l-Componenten, dann restirt d-Milchsäure als weiterhin nicht mehr angreifbares Gährungsproduct; resp. in einzelnen Fällen auch die l-Milchsäure. Die Mikroben scheinen unter günstigen Vitalitätsbedingungen eher im Stande zu sein, beide Componenten weiter zu verarbeiten, so dass stets racemische Milchsäure hinterbleibt; bei Schwächung ihrer Vitalität wird ihre Aufnahmefähigkeit je nach der Art für eine der beiden Componenten geringer, worauf Versuche von Peré[1]) an Colibacillen hinzudeuten scheinen.

Dass aber jedenfalls die Milchsäure nicht als das Endstoffwechselproduct der Lebewesen hinzustellen ist, ergiebt das stete Vorhandensein von Nebenproducten, auch bei Reinculturen, auf deren Bedeutung für eine Trennung der Fermentation vom vitalen Stoffwechsel wir bei der alkoholischen Gährung zurückkommen werden. Zunächst entsteht natürlich, als rein vitales, als Athmungsproduct der Lebewesen Kohlensäure, die mit dem Fermentprocess als solchem nichts zu thun hat; ihre Entstehung ist von Hueppe[2]) und Adametz[3]) angegeben, von Leichmann[4]) allerdings für andere Mikroben geleugnet worden, daneben entstehen andere Producte, z. B. geringe Mengen Alkohol (Leichmann)[4]) etc.

Kuprianow[5]) hat dann auch nachgewiesen, dass der Zuckerverbrauch der Milchsäurebildung durchaus nicht parallel läuft, was wir so interpretiren, dass neben dem typischen Fermentprocess der wirkliche Stoffwechsel der Mikroben einhergeht, der von ihrer Natur und den Lebensbedingungen abhängt. Ferner giebt es Mittel, um zwar die Vermehrungsfähigkeit der Mikroben, nicht aber die Fermentation zu hindern, nämlich Metallsalze in sehr geringen Concentrationen (Chassevant und Richet);[6]) wir können diese Thatsache in demselben Sinne deuten. Wir werden diese ganze Frage bei der so viel wichtigeren alkoholischen Gährung ausführlicher behandeln.

---

1) Peré, Ann. Inst. Pasteur. VI. (1892). 528. VII (1893). 737.
2) Hueppe, Mitth. a. d. kaiserl. Gesundh.-Amt. II. 309 (1884).
3) Adametz, C. f. Bact. (II.) I. 465 (1895).
4) Leichmann, C. f. Bact. XVI. 826. ref. aus Milchzeitg. 1894. 33.
5) Kuprianow, Arch. f. Hyg. XIX. 282 (1893).
6) Chassevant und Richet, C. R. 117. 673 (1893).

Substrat der Milchsäuregährung: Der typischen Milchsäurespaltung unter dem Einfluss des Fermentes unterliegen alle einfachen Hexosen, besonders Glucose, Fructose, Galactose, indess auch Mannit etc., ferner auch Pentosen, nämlich die Rhamnose (Tate).[1]

Dagegen werden Rohrzucker, Milchzucker etc. wohl erst nach voraufgegangener Spaltung durch die besonderen Enzyme zu Milchsäure vergohren.

Biologie der Milchsäuregährung: Dass bei der Milchsäuregährung nicht ein bestimmt gerichteter Stoffwechsel bestimmter Mikrobenarten vorliegt, sondern die Production eines Fermentes, dem analog den von Mikroorganismen producirten anderweitigen Fermenten eine grosse Verbreitung zukommt, dafür zeugt auch die grosse Anzahl von Bacterien, die diese Fermentation bewirken.

Es kann hier nicht meine Aufgabe sein, alle die Bacterienarten aufzuzählen, die Milchsäureferment produciren, sie finden sich zahlreich in allen Gruppen der Spaltpilze: Man kennt nicht nur Bacillen, sondern auch Coccen, Vibrionen und Sarcinen, die Milchsäure bilden.[2] Auch viele pathogene Spaltpilze, z. B. der Cholera, des Typhus, B. coli u. A. gehören dazu. Es ist also eine weit verbreitete Fähigkeit der Spaltpilze, unter bestimmten Bedingungen Milchsäure zu bilden.

Sie gähren in reinen Zuckerlösungen nicht, wohl aber kann ihnen Ammoniak in Form von Salzen als Stickstoffquelle genügen (Timpe).[3]

Das beste Nährsubstrat scheinen Peptone zu sein.

Die einzelnen Milchsäure producirenden Lebewesen verhalten sich in Bezug auf Reichhaltigkeit der Production, sowie Empfindlichkeit gegen die entstehende Säure und gegen heterogene Beimengungen ziemlich verschieden, wie Kayser[4] in einer umfangreichen Untersuchung dargethan hat. Es giebt sowohl obligat aërobe wie anaërobe Formen, andere sind gegen freien Sauerstoff indifferent. Die Culturen schwächen sich allmählich in ihrer Wirksamkeit ab.

Die meisten bilden auch Essigsäure, die häufig sogar wesentlich überwiegt, und die Milchsäurebildung überwuchert.

Bedingungen der Milchsäuregährung: Da das Milchsäureferment in sehr engem Connex mit dem Leben der Zelle steht, so ist es klar,

1) Tate, Journ. of chem. soc. 63. 1263 (1893).

2) s. b. Flügge, Microorganismen. 1896. I. S. 232.

3) Timpe, Arch. f. Hyg. XVIII. 1 (1893).

4) Kayser, Ann. Inst. Past. VIII. 779 (1894). Dort ausführliche Litteraturangabe.

dass seine Wirksamkeit durch alle Agentien vernichtet werden wird, die die Zelle vernichten. So wird es durch Alkalien, starke Säuren, sowie durch alle Protoplasmagifte, z. B. Schwermetallsalze etc., unwirksam. Ganz geringe Mengen derselben, z. B. Kupfersulfat und Sublimat in 0,00005procentiger Lösung sollen nach Richet[1]) fördernd wirken.

Das Optimum der Wirkung liegt bei 30—40°, Erhitzen auf 60° wird kurze Zeit ertragen (A. Mayer).[2])

Pepsin ist ohne Einfluss (Hirschfeld).[3])

Besonders empfindlich sind die Milchsäurebildner gegen Säuren; besonders Salzsäure,[4]) aber auch Milchsäure selbst; man muss deshalb, wenn man eine ausgiebige Gährung erzielen will, ein neutralisirendes Mittel zusetzen; am besten ist nach A. Mayer (l. c.) Calciumcarbonat. In Milch ist die Empfindlichkeit geringer, was von Timpe[5]) dadurch erklärt wird, dass einerseits das Caseïn, andererseits die neutralen Phosphate einen Theil der entstehenden Säure binden. Sonst hört bei einem Gehalt von 0,04 Proc. die Gährung auf. Aehnlich wirken auch Leim und Pepton säurebindend.

Giebt es ein **milchsäurebildendes Enzym?** Für die Sicherung unserer theoretischen Vorstellung über die Milchsäurebildung wäre es natürlich von grösstem Werthe, wenn man nachweisen könnte, dass es ein milchsäurebildendes Enzym giebt. Aus den milchsäurebildenden Organismen ist bis jetzt noch kein solches Enzym isolirt worden, dagegen giebt es eine andere Quelle der Milchsäurebildung, wo vielleicht ein Enzym in Frage kommt.

Die Milchsäure findet sich stets in thierischen Organen, besonders im absterbenden Muskel, sowie mitunter auch im Harn.

Schon Dubois-Reymond[6]) hat diesen Vorgang der Milchsäurebildung im Muskel als einen Fermentprocess aufgefasst, besonders, weil die Säuerung durch Erhitzen frischer Muskeln verhindert werden kann; und andere sind ihm darin gefolgt. Besonders Nasse[7]) hat die Milchsäurebildung genau untersucht und zahlreiche Analogien mit enzymatischen Wirkungen ans Licht gezogen.

Er nimmt eine hydrolytische Spaltung aus Zuckern an und findet, dass sie durch gewisse Salze in ganz specifischer Weise beeinflusst wird.

1) Richet, C. R. **114**. 1494 (1892).
2) A. Mayer, Maandbl. f. Naturwetensch. 1892. Maly's Jb. 1892. 598.
3) Hirschfeld, Pflüg. Arch. **47**. 510 (1890).
4) s. u. a. Cohn, Z. phys. Ch. XIV. 75 (1890).
5) Timpe, Arch. f. Hyg. XVIII. 1 (1893).
6) Dubois-Reymond, Sitzb. Berl. Acad. Math.-Physik. Cl. 1859. 288.
7) Nasse, Pflüg. Arch. XI. 138.

. Z. B. wirken Sulfate bis zu 9 Proc. befördernd auf die Milchsäurebildung, ebenso Kohlensäure.

Vor Allem aber fand er, dass auch im zellfreien Wasserextract noch Säuerung eintritt, wie schon Kühne[1]) gezeigt hat.

Wir können uns also sehr wohl die Vorstellung bilden, dass im abgestorbenen Muskel und anderen Organen, vielleicht indess auch intra vitam ein Ferment gebildet wird, ganz analog den diastatischen und oxydirenden Fermenten, welche sich aus thierischen Organen und Organextracten unter Ausschluss von vitalen Processen gewinnen lassen. Leider ist die Frage nach der Existenz eines solchen Fermentes experimentell noch gar nicht geprüft. Eigene Versuche, welche ich vor ganz kurzer Zeit begonnen habe, haben noch zu wenig positives Material geliefert, als dass man sie schon mit Nachdruck verwerthen könnte. Ob im Muskelextract ein wirksames, unter Ausschluss von Fäulnisserregern Zucker in Milchsäure spaltendes Ferment vorliegt, habe ich noch nicht untersucht; dagegen habe ich eine Versuchsreihe darüber angestellt, ob nicht vielleicht das sog. glycolytische Ferment des Blutes, auf das wir späterhin genauer eingehen werden, aus dem Zucker Milchsäure bildet. In der That habe ich aus frischem Pferdeblut nur ganz minimale Mengen Milchsäure darstellen können, sehr wenig auch aus demselben Blut, das mit Toluol und 0,6 Proc. Natriumfluorid 48 Stunden im Brutschrank gestanden hatte; relativ viel grössere Mengen dagegen, wenn ich das Blut mit dem fünften Theil einer 2%igen Traubenzuckerlösung unter denselben Bedingungen stehen liess. Indessen führe ich das hier nur an, um der Möglichkeit Raum zu geben, dass ein milchsäurebildendes Enzym existiren möge; vielleicht gelingt es mir bei der Fortsetzung meiner Versuche, die im Gange ist, kräftigere Stützen für meine Anschauung zu finden.

1) cit. n. Neumeister, Chem. B. 31. 2963 (1898).

B. Die oxydativen Fermente.

Einundzwanzigstes Capitel.

Die alkoholische Gährung.[1])

Geschichtliches: Die ältere Geschichte der Umwandlung der gährfähigen Zucker durch die Hefe fällt durchaus mit der Geschichte der Fermentprocesse im Allgemeinen zusammen. War doch gerade dieser für die Praxis der Erzeugung alkoholischer Getränke so eminent wichtige Vorgang so recht der Typus der Fermentprocesse überhaupt, und wenn über das Thema im Allgemeinen discutirt wurde, so hatte man im Wesentlichen als Hauptrepräsentanten dieser Vorgänge die „weinige" Gährung im Auge, neben der man noch nach dem Vorgange Stahl's die „faulige" und „saure Gährung" unterschied.

Man speculirte und untersuchte viel über die Natur der Hefe, deren Stickstoffgehalt man erkannt hatte, wobei besonders Fabroni, der sie mit dem Gluten identificirte, Thénard, Fourcroy u. A. zu nennen sind. Man fand, dass fast alle thierischen und pflanzlichen Stoffe die „Fermente" der Alkoholgährung darstellen können.

Als dann durch die Auffindung der ungeformten Fermente der Kreis der zu untersuchenden Thatsachen wesentlich erweitert wurde, da versuchte es Liebig, durch seine im „Allgemeinen Theil" ausführlich besprochene Theorie die Gesammtheit der Fermentprocesse zu erklären. Nachdem aber durch die Arbeiten von Pasteur[2]) die grosse, fundamentale Bedeutung kleiner, pflanzlicher Lebewesen für eine grosse Anzahl von „fermentativen" Processen ins hellste Licht gerückt war, wurde Liebig's energetische Auffassung, deren theoretische Fundirung schwerwiegende Mängel aufwies, durch die im Gefolge dieser Befunde

1) Der Name stammt von Fourcroy 1787.

2) s. dar. Pasteur, Die Alkoholgährg. Dtsch. v. Griessmayer. Stuttgart 1878 (II. Aufl.) S. 42, wo die ältere Geschichte dargestellt ist.

sich ausbildende biologische Auffassung in den Hintergrund gedrängt. Wir haben gezeigt, dass man sich mit der Erklärung der Fermentprocesse dieser Gattung begnügte, indem man sie ohne Weiteres dem Lebensprocess des Mikroorganismus zuschrieb, auf jede energetische Umgrenzung und Begriffsbestimmung verzichtete und somit in dem „geformten“ Fermenten einen vollen Gegensatz zu den Enzymen schuf. Und in diesem Ideenkreise bildete wiederum die Alkoholgährung durch Hefen den Prototyp der Processe, die durch geformte Fermente ausgelöst wurden. Das dabei wirksame Ferment verschwand in dem vitalistischen Dunkel und konnte als solches nicht Gegenstand der Discussion sein. Man studirte mit grossem Eifer einerseits die Lebensbedingungen, sowie die Morphologie der Fermentträger, und untersuchte andererseits den Chemismus der Fermentwirkung.

Wenn wir nun die Frage der alkoholischen Gährung jetzt, wo wir durch Buchner's Versuche wissen, dass die Fermentwirkung vom Lebensprocess der Hefepilze losgelöst werden kann, als einen Theil der Lehre von den Fermentprocessen betrachten wollen, so ist zunächst sicher, dass wir dem Chemismus der Wirkung einen ebenso breiten Raum gewähren müssen, wie man dies früher nur je thun konnte.

Anders aber liegt die Sache bei der Discussion des biologischen Theiles unseres Capitels. Wenn wir von dem Standpunkt ausgehen, dass die Hefezellen nur die Mutterzellen des eigentlichen Fermentes sind, so werden wir der biologischen Schilderung dieser Organismen nur soviel Wichtigkeit für unser Thema beimessen, wie wir auch bei den ungeformten Enzymen uns morphologisch und biologisch mit den sie erzeugenden Zellen beschäftigt haben. Wir werden also auf einen ausführlichen Abriss der Naturgeschichte der Hefepilze verzichten, sondern diese nur streifen, und nur insoweit ausführlicher behandeln, als sie eben mit dem Fermentprocess, sei es mit der Bildung oder der Wirkung des Fermentes zusammenhängt.

Die Frage z. B. nach der botanischen Stellung, der Ernährung, den Wachsthumsformen und -Bedingungen, der Vermehrung der Hefepilze etc. ist als solche betrachtet ein Theil der Botanik; nur insofern durch diese biologischen Momente die fermentative Wirkung beeinflusst wird, werden diese Fragen zu einem nothwendigen Bestandtheil unserer Besprechung.

Ausserdem kommt aber zu den beiden bisherigen umfangreicheren Capiteln jetzt noch ein drittes, die Frage nach dem Fermente als solchem. Wir haben damit also eine Dreitheilung unseres Themas:

Natur und Darstellung des Fermentes, Chemismus der Wirkung und die Biologie der Fermenterzeuger.

Das alkoholisirende Ferment: Wie wir bereits wiederholt auseinandergesetzt haben, galt bis in die jüngste Vergangenheit der Vorgang der alkoholischen Gährung als ein solcher, der untrennbar fest mit dem Lebensvorgang einer kleinen Anzahl niederer Pilze verbunden sei. Wenn auch vereinzelte Forscher annahmen, dass die alkoholisirende Function dieser Mikroben trotzdem auf die Thätigkeit von Fermenten zurückzuführen sei, die sich allerdings dadurch von anderen unterscheiden, dass sie aus der Zelle nicht isolirbar seien, war doch die überwiegende Majorität mit Pasteur der Meinung, dass die Alkoholgährung ohne Weiteres ein rein vitaler, ein Stoffwechselvorgang der Pilze sei. Gerade, wie z. B. die Bildung von Kohlehydraten und Eiweissstoffen in höheren Pflanzen, so sollte die Alkoholbildung ein Lebensvorgang der Hefezellen sein. Eine solche Vorstellung von spaltenden Processen innerhalb des rein vitalen Vorgangs ist ja an sich nicht undenkbar und auch dort, wo unzweifelhaft enzymatische Processe mitwirken, wie bei der Stärkeumsetzung der Pflanzen, wird ja von manchen Autoren auch die neben der Diastasewirkung einhergehende, ihr an Bedeutung vielleicht überlegene Thätigkeit des lebenden activen Protoplasmas angenommen (z. B. von Wortmann, s. S. 174).

So lange es nicht gelingen wollte, das Enzym der Alkoholgährung von dem Lebensprocess zu isoliren,[1]) so lange konnte eine experimentelle Lösung dieses für die ganze Auffassung des Fermentprocesses so wichtigen Problems nicht gegeben werden, und es stand Meinung gegen Meinung.

Nur wenige Befunde liegen vor, die sich im Sinne einer nicht bedingungslosen Zusammengehörigkeit von Gährfähigkeit und Leben der Hefe verwerthen lassen, so z. B. die interessante Beobachtung von Fiechter,[2]) dass Blausäure wohl den Lebensprocess und die Entwickelung der Hefe völlig aufhebt, nicht aber auch ohne Weiteres die Fermentwirkung. Wenn beträchtlichere Hefemengen vorhanden sind, so wird zwar durch Blausäure mit dem Lebensprocess auch die Neubildung von Ferment unterbunden, nicht aber die Wirkung des bereits producirten aufgehoben. Andererseits deuten Angaben von de Bary[3])

1) Als einer der vielen vergeblichen Versuche sei der von Lüdersdorff (Poggend. Ann. 67. 408) erwähnt. Er giebt an, dass Hefe durch Zerreiben ihre alkoholisirende Kraft verliert.

2) Fiechter, Wirkg. der Blausäure. Diss. Basel 1875.

3) de Bary, Vorlesg. üb. Bacterien. Leipzig 1885. S. 65.

darauf hin, dass man z. B. bei Mucorarten die fermentative Kraft vernichten kann, ohne die Lebensfähigkeit zu zerstören. Immerhin waren diese Thatsachen nicht ausreichend, um die herrschende Lehre zu erschüttern, ebensowenig die Beobachtung von Rey-Pailhade,[1]) dass ein ca. 20 %iger alkoholischer Hefeauszug CO_2 abgiebt.

So war es denn eine wissenschaftliche That ersten Ranges, als vor wenigen Jahren E. Buchner den Nachweis führte, dass es ein Enzym giebt, das, losgelöst vom Lebensprocess, die Fähigkeit besitzt, Zucker in Alkohol und Kohlensäure zu spalten.

Buchner[2]) verfuhr dabei folgendermaassen:

Die Hefe wurde mit Quarzsand, Kieselguhr und Wasser verrieben, und dann in einem doppelten Presstuch einem Druck von 4—500 Atmosphären ausgesetzt. Dabei resultirte ein Presssaft. Der Rückstand wurde nochmals so behandelt, so dass schliesslich aus 1 kg Hefe 500 ccm Presssaft erhalten wurden. Er stellt eine schwach opalisirende, eiweissreiche Flüssigkeit dar, die durch Chamberlandfilter oder auch durch Papierfilter filtrirt wird und nun das Enzym der Hefe, die Zymase enthält. Man kann diesen Presssaft vorsichtig bei gelinder Temperatur (nicht über 35 °) zur Trockene bringen, ohne dass er seine fermentative Kraft einbüsst. Auch in Glycerin ist diese Fähigkeit zu conserviren.

Albert und Buchner[3]) haben dann durch Alkoholätherfällung ein Trockenpräparat der Zymase gewonnen, das seine alkoholisirende Kraft nicht eingebüsst hat, auch nach nochmaliger Auflösung in Glycerin und Fällung mit Alkoholäther. Die proteolytischen, die Zymase sonst zerstörenden Fermente werden dadurch in ihrer Wirkung gehemmt. Dagegen hat der spontan sich aus frischer Hefe abscheidende Saft, wenn man sie nach Adrian[4]) mit einigen Tropfen Aether anrührt, zwar invertirende, aber keine Gährwirkung.

Die Zymase ist sehr unbeständig, sie verliert in Lösung an der Luft nach wenigen Tagen ihre Wirksamkeit, lässt sich aber in luftdicht verschlossenen Gefässen oder in concentrirter Rohrzuckerlösung länger unzersetzt aufbewahren. Hefe, die durch jahrelanges Lagern getötet ist, enthält noch wirksames Ferment (Will).[5])

Bei 40—50 ° wird sie zerstört, indem gleichzeitig Gerinnung ein-

---

1) Rey-Pailhade, C. R. **118**. 201 (1894).

2) E. Buchner, Chem. Ber. XXX. 117. 1110. 2668. XXXI. 209. 568. 1084. 1090. 1531. XXXII. 127 (1897—99).

3) Albert und Buchner, Chem. B. **33**. 266. 971 (1900).

4) Adrian, Bull. gén. d. Thérap. 1900. 156. cit. n. Chemikerzeitg. 1900. S. 76.

5) Will, Z. ges. Brauw. 1896. 20. cit. n. Buchner.

tritt. Bei längerer Einwirkung tritt die Zerstörung schon bei niederer Temperatur ein. Dagegen scheint sie gegen trockenes Erhitzen auf 100° nicht empfindlich zu sein, da auch so getötete Hefe noch wirksames Ferment enthält. Bei 150° ist diese Fähigkeit vernichtet. Sie ist gegen Chloroform, Benzol, Toluol ziemlich beständig wie ein echtes Enzym; Natriumarsenit, das meist unschädlich ist, zeigt bisweilen einen schädlichen Einfluss, dessen Ursache noch nicht aufgeklärt ist. Sie zersetzt H_2O_2; wie bei allen Fermenten hebt Blausäure diese Function auf, schädigt aber auch die Fermentwirkung. Formalin und Hydroxylamin schädigen (Wróblewski).[1])

Gegen proteolytische Fermente ist sie sehr empfindlich, und wird nach Buchner wohl deshalb in dem solche Enzyme enthaltenden Presssaft so schnell zerstört.

Gelindes Erwärmen steigert ihre Wirksamkeit.

Ammoniumsalze stören wenig, desgleichen Natriumazoimid, wohl aber Fluoride.

Die Natur der Zymase: Durch die Buchner'schen Arbeiten ist es trotz aller Angriffe[2]) zur Evidenz erhoben, dass die Alkoholgährung kein vitaler Vorgang der Hefepilze ist, sondern dass hier ein Ferment wirksam ist.

Wenn man dieses Ferment, wie manche wollen,[3]) als „Protoplasmasplitter" oder derartiges bezeichnet, so ist das eine ebenso vage Vorstellung, wie diejenigen, die überhaupt den Fermenten „Reste von vitalen Kräften" oder ähnliche unfassbare Eigenschaften vindiciren wollen. Protoplasmasplitter, die durch Berkefeldtfilter gehen, ein trockenes Erhitzen von 100° vertragen und durch Gifte, wie Chloroform und Arsen, in ihrer Wirksamkeit nicht gehemmt werden, sind eben kein lebendes Protoplasma mehr und können als solche keine vitalen Functionen ausüben; so lange nicht der Nachweis geführt ist, dass der Buchner'sche Presssaft lebende, vermehrungsfähige Zellen enthält, sind diese speculativen Einwände gegen Buchner's Anschauungen, die sich auf sorgfältig durchgeführte Versuche stützen, durchaus gegenstandslos. Die Thatsache ist aber unbedingt die, dass die Umwandlung von Zucker in Alkohol und Kohlensäure von einem löslichen Ferment ohne Anwesenheit lebender Zellen bewirkt wird.

Ob man sich dieses Enzym nun mehr oder weniger complicirt vorstellen will, und ob man dazu eine dem lebenden Protoplasma

---

1) Wróblewski, Centralbl. f. Physiologie. XIII. 284 (1899).
2) Ueber diese s. b. Buchner, l. c.
3) Abeles, Chem. Ber. 31. 2261 (1898).

ähnliche chemische Natur annehmen will, steht um so weniger zur ernsten Discussion, als die bisherigen Untersuchungen über die Natur der Zymase noch sehr wenig an thatsächlichem Material ergeben haben. Buchner nimmt wohl mit Recht eine eiweissähnliche Natur für sie in Anspruch.

Dass das Ferment sich in manchen Beziehungen von anderen einfachen Enzymen unterscheidet, (Neumeister),[1] Wróblewski,[2] ist vollkommen richtig. Sie zeigt sowohl in ihrem chemischen Verhalten, z. B. in ihrer weitaus grösseren Empfindlichkeit, als auch besonders in ihren Secretionsbedingungen bedeutende Differenzen von anderen Enzymen.

Aber diese Differenzen zeigen nur, dass sie ein Enzym besonderer Art ist, nicht aber kann man ihr deswegen, weil sie von den anderen Enzymen in gewissen Eigenschaften abweicht, überhaupt den Character des Enzyms absprechen, dessen Definition doch eine wesentlich energetische ist. Diese Bedingung erfüllt die Zymase vollständig; und deshalb ist sie ein Enzym, oder da wir diesen Terminus als einen principiell wichtigen nicht ansehen können, einfach ein Ferment. Dass sie, die am festesten mit dem Protoplasma zusammenhängt, auch im losgelösten Zustande am empfindlichsten ist, darf nicht Wunder nehmen; sehen wir doch, dass die Fermente, die eine Mittelstellung in der Festigkeit des Zusammenhangs einnehmen, wie die Invertase und die Urase, auch schon empfindlicher sind, als die einfach secernirten wie Pepsin und Diastase. Buchner stellt sie demzufolge auch in nächste Beziehung zu der eigenthümlichen, auch nicht ohne Weiteres abtrennbaren Invertase der Monilia candida (s. d.).

Wir müssen also annehmen, dass die alkoholische Gährung bedingt ist durch ein von den Hefezellen producirtes Enzym, das aber im Gegensatz zum Pepsin etc. nicht im Ueberschuss frei secernirt wird, sondern stets nur in geringer Menge aus dem Zellleib herausdiffundirt, um sehr bald wieder vernichtet zu werden, wenn es seine specifische Wirksamkeit entfaltet hat. Vielleicht geht neben dieser extracellulären Wirksamkeit noch eine Vergährung des in die Zelle hineindiffundirenden Zuckers einher, wie es ja auch bei der Inversion durch Monilia candida der Fall sein mag. Theoretisch handelt es sich hier jedenfalls um einen echten Fermentprocess.

Der Chemismus der Reaction: Bis zu Lavoisier's Unter-

---

1) Neumeister, Chem. B. **31.** 2963 (1898).
2) Wróblewski, C. f. Phys. XII. 697 (1898).

suchungen wusste man von dem chemischen Process der Gährung nichts weiter, als dass dabei Alkohol und Kohlensäure entsteht.

Lavoisier[1]) war der Erste, der es versuchte, diesen Vorgang quantitativ zu verfolgen. Er nahm an, dass sich regelmässig Alkohol, Kohlensäure und Essigsäure bilden. War schon die letztere Annahme, wenigstens in dem Umfange einer Entstehung von Essigsäure, wie Lavoisier es glaubte, falsch, so scheiterte eine genaue Bestimmung der entstehenden Producte an der Mangelhaftigkeit der analytischen Methoden, die Lavoisier zur Verfügung standen. So kam es, dass Lavoisier eine durchaus falsche Gleichung für die alkoholische Gährung aufstellte, die nur deshalb eine Bedeutung erlangt hat, weil merkwürdiger Weise die einzelnen Fehler sich in der Weise compensiren, dass die Gesammtbilanz der entstehenden Producte ungefähr mit der verbrauchten Zuckermenge stimmte.[2])

Erst dadurch, dass durch genauere Untersuchungen die wirkliche Zusammensetzung des Zuckers selbst, sowie des Alkohols erkannt wurde; ferner durch den Nachweis, dass Essigsäure kein normales Product der Alkoholgährung ist, wurde es möglich, die fehlerhafte Gleichung Lavoisier's durch eine bessere zu ersetzen. Dieser gewaltige Schritt vorwärts wurde von Gay-Lussac[3]) gethan, der eine Formel aufstellte, die in unsere heutige Formelsprache übersetzt lautet:

$$C_6H_{12}O_6 = 2CO_2 + 2C_2H_5OH.$$

Gay-Lussac machte indessen dabei noch den Fehler, dass er durch eine willkürliche Abänderung der Zahlen die Gleichung für Rohrzucker einstellte, während sie in Wirklichkeit für Traubenzucker gilt. Dieser Fehler wurde von Dumas und Boullay[4]) aufgedeckt, die die Gleichung dahin corrigirten und die weittragende Bemerkung machten, dass der Rohrzucker nicht gähren könne, ohne vorher ein Mol. H_2O aufzunehmen.

Diese Formel drückt den hauptsächlichen Verlauf der Reaction völlig genau aus. Freilich wird sie doch dadurch eingeschränkt, dass Alkohol und Kohlensäure nicht die einzigen Producte der Gährung sind, worauf wir noch zurückkommen werden.

Wenn man sich aber der Bequemlichkeit halber vorstellen dürfte, dass ein grosser Bruchtheil des Zuckers glatt in Alkohol und Kohlensäure zerfällt, während die Nebenproducte unabhängig davon aus

1) Lavoisier, *Elém. d. chim. I. S. 139. (IIe édit.) Ann. d. Chim. II. 238. (1789); XXXVI. 116.

2) Genaueres darüber s. b. Kopp, Gesch. d. Chemie IV. S. 207. u. A. Mayer, Gährungschemie. Heidelb. 1895. S. 21.

3) Gay-Lussac, Ann. de Chimie. 95. 311 (1815).

4) Dumas und Boullay, Ann. Chim. Phys. 37. 45 (1828).

anderen Zuckermengen entstünden, so wäre diese Formel durchaus berechtigt und einwandsfrei.

Wenn wir indessen das Schicksal der Gesammtzuckermenge quantitativ verfolgen, so stimmt diese Gleichung nicht.

Ein Theil des Zuckers wird nämlich, wie Pasteur nachgewiesen hat, der Fermentwirkung — in unserem Sinne — überhaupt dadurch entzogen, dass ihn die Hefe verzehrt und assimilirt, d. h. einen Theil des zur Vermehrung ihrer Masse nöthigen Kohlenstoffs aus ihm entnimmt.

Ein anderer Theil wird vielleicht in einem von dem eigentlichen Fermentvorgang verschiedenen Process zu Nebenproducten umgebildet, so dass also nach dieser Auffassung nur ein Theil des Zuckers der echten alkoholischen Gährung im Sinne der angegebenen Formel unterliegt.

Dafür, dass die Bildung der Nebenproducte ein neben der eigentlichen Fermentation einhergehender Process ist, spricht mancherlei, obwohl es mit Sicherheit nicht zu entscheiden ist.

So ist z. B. auch bei normalen alkoholischen Gährungen die Quantität der entstehenden Nebenproducte ziemlich verschieden und wird von äusseren Umständen beeinflusst. Besonders biologische Factoren, speciell solche, die die vitale Energie der Hefezellen beeinflussen, spielen dabei eine Rolle, wie wir unten sehen werden. Bei der sonst so constanten chemischen Natur der Fermentprocesse ist es damit viel wahrscheinlicher gemacht, dass diese äusseren Factoren den Lebensprocess der Hefezellen beeinflussen, als den Fermentvorgang. Wir könnten uns demgemäss vorstellen, dass die Entstehung dieser Nebenproducte in den Bereich des Stoffwechsels der Organismen selbst gehörte, sie also typische Abscheidungsproducte darstellten, die natürlich je nach den biologischen Bedingungen etwas schwankende Zahlenverhältnisse zeigen würden. Sie wären damit ebensowenig „Fermentproducte“, Gährproducte in theoretischer Bedeutung, wie die Producte der zweifellos rein biologischen Umsetzungen, die der Hefenorganismus mit dem von ihm zur Ernährung verwendeten Zucker vornimmt, aus dem er die Stoffe seines Zellleibes: Cellulose, Fette, Proteïne etc. aufbaut, und die wir unter keinen Umständen als Gährproducte anerkennen können. Man sieht auch hier wieder, wie eminent auch praktisch wichtig die scharfe Trennung der fermentativen Function von den biochemischen Umsetzungen des fermenttragenden Organismus in seinem Protoplasma ist; und wir werden uns nicht wundern, dass es Pasteur nicht gelang, auch diese Umsetzungen mit in eine einheitliche Formel des Gährprocesses hineinzuziehen, und dass

auch A. Mayer[1]) diese Frage in suspenso lässt. Es wäre praktisch natürlich am einfachsten, wenn man beweisen könnte, dass der eigentliche Fermentprocess sich auf die glatte Spaltung des Zuckers in Alkohol und Kohlensäure beschränkt, während alle übrigen Vorgänge, die quantitativ dagegen sehr zurücktreten, auf in demselben Medium einhergehende Stoffwechselvorgänge der Hefepilze zurückzuführen wären. Wir hätten dann das denkbar einfachste Schema: einerseits den typischen, an einem gegebenen Theil des Zuckers vor sich gehenden, stets gleichmässig verlaufenden Fermentprocess, andererseits den von biologischen Bedingungen abhängigen, und je nach diesen einen mehr oder minder grossen Bruchtheil des Zuckers als Nahrungsmittel beanspruchenden, zu secundären Umsetzungen führenden Lebensprocess der Fermentträger.

Aus dem Lebensprocess, nämlich der Athmung der Mikroben, folgt auch die Mehrbildung von Kohlensäure gegenüber der aus der Gährungsgleichung geforderten Menge, eine Thatsache, die schon Pasteur constatiren konnte.

Andererseits ist indessen auch die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen, dass wenigstens die regelmässige, in nur geringen Grenzen schwankende Entstehung der beiden wichtigsten Nebenproducte, der Bernsteinsäure und des Glycerins, einem anderen Ferment, oder besser zwei anderen Fermenten zuzuschreiben ist, die auch unabhängig vom Stoffwechsel diese specifischen Umsetzungen bewirken, ein Gedanke, dem z. B. von Duclaux[2]) Ausdruck verliehen worden ist.

Diese Frage lässt sich noch nicht sicher entscheiden. Jedenfalls aber müssen wir aus unseren Betrachtungen das Facit ziehen, dass keinesfalls die synthetischen Umsetzungen, die der Zucker innerhalb der Hefezelle erfährt, auf Rechnung des Fermentprocesses zu setzen sind, und dass unsere Ansichten über das Wesen des Fermentprocesses, rein theoretisch betrachtet, jedenfalls wesentlich an Klarheit gewinnen, wenn wir den Hauptprocess als einen einheitlichen betrachten, der glatt nach der Formel

$$C_6H_{12}O_6 = 2CO_2 + 2C_2H_5OH$$

vor sich geht.

Es entsteht dann die Frage, unter welche Kategorie von fermentativen Processen wir diesen Vorgang bringen dürfen. So ohne Weiteres lässt er sich weder unter die hydrolytischen noch unter die oxydativen Spaltungen einreihen. Die Aufnahme der Elemente des Wassers spielt, wenn wir nur die Endzustände betrachten, über-

1) Mayer, l. c. S. 26.
2) Duclaux, Ann. Inst. Pasteur. XI. 348 (1897).

haupt keine Rolle, wenn auch wohl angenommen werden darf, dass intermediäre Aufnahme und Abspaltung von Wasser dabei mitwirkt, da ja der Process ausschliesslich in wässeriger Lösung vor sich geht. Schematisch kann man den Process definiren als einen Oxydationsvorgang, bei dem allerdings kein freier Sauerstoff aufgenommen wird, sondern bei dem sich ein Theil des Molecüls auf Kosten des anderen Theiles bis zur höchsten Oxydationsstufe oxydirt. Es tritt dabei durch intermediäre Verschiebungen des Sauerstoffes eine Cumulation desselben an einer Stelle des Molecüls ein, die dann zum Zerfall desselben führt (Baeyer).[1])

Wir können um so eher mit allen Vorbehalten diesen Vorgang als einen Oxydationsprocess sui generis hinstellen, als er eine Verbrennungserscheinung ist, d. h. unter Abgabe von Energie in Form von Wärme vor sich geht. Er ist also exothermal, erfüllt mithin die Anforderungen, die wir an einen Fermentprocess stellen.

Wir können ihn somit, allerdings nicht ohne eine reservatio mentalis, den oxydativen Fermentprocessen zurechnen.

Die Nebenproducte: Während, wie gesagt, die regelmässig in überwiegender Menge bei dem Gährprocess entstehenden Producte Alkohol und Kohlensäure sind, entstehen bei jedem normalen Vorgang als constante Producte vor Allem Glycerin und Bernsteinsäure, die auch bei Gährung mit Hefereinculturen auftreten, also nicht etwa fremden Mikroben ihre Entstehung verdanken.[2])

Pasteur[3]) gelang der Nachweis dieser Stoffe im Jahre 1858 und zugleich die Reindarstellung aus dem Gährgemisch.

Sein Verfahren beruht im Wesentlichen darauf, dass er die Flüssigkeit von der Hefe abfiltrirt, durch sehr langsames Eindampfen von Alkohol und Kohlendioxyd befreit und den Rückstand mit einem Alkohol-Aethergemisch extrahirt, in dem sowohl Glycerin als auch Bernsteinsäure löslich sind; die Bernsteinsäure wird dann in das Kalksalz übergeführt, durch nochmaliges Ausziehen mit Alkohol-Aether das Glycerin entfernt und die Bernsteinsäure als krystallirtes Kalksalz gewonnen. Das Verfahren wurde dann u. A. von Fitz und Clausnitzer[4]) (für die Glycerinbestimmung) modificirt.

Pasteur fand, dass die gebildeten Glycerinmengen bei normalen Gährprocessen zwischen 2,5—3,6 %, die der Bernsteinsäure zwischen 0,4—0,7 % des vergohrenen Zuckers schwankten.

Pasteur hat versucht, auch den Antheil, den diese constanten

1) Baeyer, Chem. B. III. 73 (1870).
2) Litt. s. bei Flügge, Microorg. **1896**. S. 226.
3) Pasteur, Die Alcoholgährung, l. c. S. 9 (s. u.).
4) s. d. u. a. Thylmann und Hilger, Arch. f. Hyg. VIII. 451.

Nebenproducte an dem Processe haben, in einer umfassenderen Formel zu berücksichtigen. Wir haben schon oben dem Gedanken Raum gegeben, dass es wohl in Verfolgung unserer theoretischen Erwägungen zweckentsprechender wäre, diesen Vorgang von dem eigentlichen Fermentprocesse zu trennen, und ihn entweder einem parallel gehenden, anderen Fermentvorgang oder dem Stoffwechsel der Fermentträger schlechthin zu überweisen.

Zwar sind die zahlenmässigen Schwankungen des Gehaltes an Glycerin und Bernsteinsäure nur gering, aber doch einmal nachweisbar; sie sind aber vor Allem in grossem Umfange abhängig von Factoren, die die biologischen Qualitäten der Hefe besonders beeinflussen.[1]) Pasteur selbst hat schon hervorgehoben, dass je langsamer der Gährprocess verläuft, um so mehr Nebenproducte entstehen. Ferner giebt A. Mayer[2]) an, dass in neutralen Gährgemischen, die der Hefe weniger „zuträglich" sind, als schwach saure, ebenfalls mehr davon gebildet wird. Dafür sprechen weiterhin auch Befunde von Effront[3]) und Brefeld,[4]) dass sie dort besonders hervortreten, wo schwache Gährungsprocesse obwalten, z. B. in den letzten Stadien der Hefegährung und bei Mucor-Gährungen. Dagegen bildet Hefe, die an NaF „gewöhnt" ist, nach Effront[5]) weniger Glycerin.

Alle diese Thatsachen könnte man wohl in dem Sinne deuten, dass eben dort, wo die fermentative Function der Hefe relativ zurücktritt, während die vitalen Energieumsetzungen, der Stoffwechsel absolut der gleiche geblieben oder weniger in ungünstigem Sinne beeinflusst ist, der fermentative Hauptprocess benachtheiligt erscheint gegenüber den andersartigen Umsetzungen, die zur Bildung der Nebenproducte führen. Prägnant dafür ist das angeführte Beispiel, dass Pilze von geringerer fermentativer Kraft, wie die Mucorarten, relativ mehr Nebenproducte erzeugen. Besonders interessant aber ist der Befund von v. Udranszky,[6]) dass sich Glycerin ohne Kohlensäureentwicklung beim Absterben der Hefe bildet und unter ähnlichen Umständen, bei denen jeder Gährprocess sich ausschliessen lässt, besonders auch in zuckerfreien Nährböden.

Mach und Portele[7]) geben an, dass gelüftete Hefe mehr Glycerin producirt als die des Sauerstoffes entbehrende, obwohl die Fer-

---

1) s. d. u. a. Thylmann und Hilger, Arch. f. Hyg. VIII. 451.
2) A. Mayer, l. c. S. 28.
3) Effront, C. R. 119. 92 (1894).
4) Brefeld, Landwirthsch. Jahrb. 1876. 281.
5) Effront, C. R. 119. 169 (1894).
6) v. Udranszky, Z. f. physiol. Ch. XIII. 539.
7) Mach und Portele, Landwirthsch. Versuchsstat. 41 (1892).

mentthätigkeit der Hefe bei reichlicher O-Zufuhr schwächer ist. Dazu kommt, dass nach Rau[1]) die Bernsteinsäurebildung zahlenmässig von der Glycerinbildung unabhängig ist. Es bildet sich bei niederer Temperatur (also bei Abschwächung des Stoffwechsels) weniger Glycerin, bei überschüssiger Nahrungszufuhr mehr; die Bernsteinsäurebildung wird indess dadurch nicht wesentlich beeinflusst.

Ob die Zymase Glycerin und Bernsteinsäure bildet, ist bis jetzt aus den Publicationen noch nicht zu ersehen. Es ist auch bei dem überhaupt geringfügigen Umfang der Zymasegährung schwierig nachzuweisen. Ein sicheres negatives Resultat wäre naturgemäss für diese Frage von grösstem Interesse.

Ausser Glycerin und Bernsteinsäure findet sich auch bei normalen Gährprocessen stets eine sehr geringe Menge — ca. 0,05 Proc. — Essigsäure (Duclaux).[2]) Auch ihre Menge ist so gering, dass man ihre Entstehung wohl kaum dem eigentlichen Fermentprocess als primäres Product zuschreiben darf; und auch sie wächst sofort bedeutend, sobald durch pathologische Vorgänge die biologischen Qualitäten der Hefe beeinflusst werden. Auch ist es nur durch Anwendung ganz besonderer Vorsichtsmassregeln zu vermeiden, dass sich mehr Essigsäure secundär aus dem entstandenen Alkohol bildet, so dass praktisch auch normal vergohrene Getränke, z. B. Weine, mehr als 0,1 Proc. Essigsäure enthalten.[3])

Von anderen Beimengungen fand Pasteur selbst einen sehr geringen Rest stickstoffhaltiger Substanz, den er nicht untersucht hat. Claudon und Morin[4]) fanden noch, allerdings nicht bei Gährprocessen von zweifelloser Reinheit, geringe Mengen Amylalkohol und eine andere Substanz, die sie für Isobutylenglycol $(CH_3)_2 C(OH) \cdot CH_2 OH$ halten, sowie Spuren anderer Stoffe.

Ausserdem giebt Mayer mit Recht an, dass man jedenfalls annehmen muss, dass jede specifische Hefe, wenn auch oft in sehr geringer Menge, besondere Geschmacks- und Geruchsstoffe erzeugen muss, die den einzelnen Getränken ihren charakteristischen Werth verleihen. Alle diese Nebenprocesse dürfen wir wohl ohne Weiteres als solche betrachten, die von dem eigentlichen Fermentvorgang unabhängig und dem Lebensprozess der Hefen zuzuschreiben sind.

Solche Stoffe sind z. B. Spuren von Aldehyd (Roeser),[5]) besonders bei Luftzutritt, Acetal, sodann die höheren Alkohole (Fusel-

1) Rau, Archiv f. Hyg. XIV. 225 (1892).
2) Duclaux, cit. n. A. Mayer, l. c. S. 29.
3) A. Mayer, l. c. S. 30. vgl. dagegen Maumené, C. R. 57. 398 (1863).
4) Claudon und Morin, C. R. 104. 1109 (1887).
5) Roeser, Ann. Inst. Pasteur. VII. (1893). 41.

öle) in Spiritusgährgemischen (Lindet),[1]) Furfurol, und die Bouquetstoffe der Weine, die aus Säureestern und Aethern sich zusammensetzen.

Das Substrat des Gährprocesses: Als theoretisch wichtigste Feststellung bei der Untersuchung, welche Zucker der alkoholischen Gährung fähig sind, ergiebt sich der Satz, dass überhaupt nur Zucker mit drei, sechs und neun Kohlenstoffen einer Einwirkung des alkoholbildenden Fermentes zugänglich sind (E. Fischer).[2]) Die Triose, die durch Oxydation des Glycerins als ein Gemisch von Glycerinaldehyd CH_2 OH·CHOH CHO und Dioxyaceton CH_2·OH·CO·CH_2·OH entsteht[3]), und die verschiedenen Nonosen sind nur synthetisch zugänglich und ohne besondere praktische Bedeutung. Wichtig ist dagegen, dass die in der Natur so weit verbreiteten Pentosen (Arabinose, Xylose, Rhamnose etc.) der Gährung nicht unterliegen, sondern nur die Hexosen von der Formel $C_6H_{12}O_6$. Indessen finden wir auch hier die eigenthümliche Abhängigkeit fermentativer Processe von der sterischen Configuration. Von allen Aldehydzuckern gähren nur die d-Glucose (Traubenzucker), die d-Mannose und die d-Galactose, während z. B. die Gulose, Talose, Idose nicht gährfähig sind, ebensowenig die l-Formen der genannten Zucker. Eine besondere Stellung nimmt die d-Galactose in dieser Beziehung ein. Sie ist gährfähig, jedoch nur von Hefen, die ihr angepasst sind, was bei den einzelnen Hefen mehr oder minder leicht möglich ist. Diese Anpassung kann auch wieder aufgehoben werden, besonders durch energische Vermehrung und Züchten auf Peptonen. Dienert[4]) hat diese Frage genau untersucht. S. apiculatus soll Galactose gar nicht vergähren (Voit).[5]) Von den Ketosen ist mit Sicherheit nur die d-Fructose als gährfähig erkannt; die Identität der ψ-Fructose Lobry de Bruyn's,[6]) die ebenfalls gähren soll, ist noch nicht sicher-

---

1) Lindet, C. R. **107**. 182 (1888). **112**. 102 (1891).

2) Fischer, Chem. Ber. **23**. 2137 (1890).

3) Die Gährfähigkeit der Glycerose ist überdies von Emmerling, (Chem. B. **32**. 342. (1899)) aus guten Gründen stark in Zweifel gezogen worden. Er fand, dass weder Glycerinaldehyd noch Dioxyaceton, noch frische Glycerose gährfähig sind; wohl aber nach dem Erwärmen, so dass man eher annehmen kann, dass hier eine Polymerisirung zu einer gährfähigen Hexose vorliegt.

4) Dienert, s. z. B. Ann. Inst. Past. XIV. 139 (1900). Chem. Centrbl. 1900. I. 1033.

5) Voit, Z. f. Biol. **29**. 149. (1892).

6) Lobry de Bruyn, Recueil des trav. chim. des Pays.-Bas. 1897/98.

gestellt; dagegen sind die Sorbose und Tagatose, sowie die l-Fructose nicht gährfähig.

Soweit lässt sich feststellen, inwieweit die Zucker dem alkoholisirenden Ferment der Hefe direct zugänglich sind. Indessen ist die Hefe auch im Stande, höhere Kohlehydrate umzuwandeln. Wir haben in dem Capitel über sacharificirende Fermente ausführlich auseinandergesetzt, dass die Hefezelle ausser dem ihr adhärenten alkoholisirenden Ferment noch eine Reihe von Enzymen producirt, die die complicirten Kohlehydrate zunächst in Hexosen spalten und sie damit der eigentlichen Fermentwirkung zugänglich machen. Wir sahen, dass die Hefe zunächst die Stärke durch Diastase, den Rohrzucker durch Invertase, die Maltose durch Maltase spaltet und dass dementsprechend andere Enzyme die Trehalose, Melibiose etc. spalten können. Die meisten Hefen können Milchzucker nicht vergähren; es giebt aber andererseits besondere Hefen, die ein den Milchzucker spaltendes Enzym, die Lactase produciren und dann die gebildeten Spaltproducte, d-Glucose und d-Galactose, vergähren. Diesen Milchzuckerhefen fehlt merkwürdigerweise die Maltase, so dass sie Maltose nicht angreifen. Es scheinen sich also Maltase und Lactase in den Hefen zu vertreten. Auch andere, so S. Marxianus u. A. enthalten keine Maltase. Einige, wie z. B. wie Sacharomyces apiculatus und S. octosporus enthalten keine Invertase, so dass sie Rohrzucker nicht angreifen können.

Die Polysacharide sind natürlich ebensowenig direct vergährbar. Die Thatsache, dass das bei der diastatischen Stärkespaltung entstehende Dextrin doch schliesslich zum grössten Theil vergohren wird (Barfoed)[1]), will man durch eine langsame Einwirkung der Maltase erklären (s. S. 201). Glycogen soll nach Koch und Hosaeus[2]) nicht vergohren werden, dagegen die selteneren Polysacharide Helianthenin und Synarthrin, die Tanret[3]) in Topinamburknollen nachgewiesen hat.

Innerhalb der Grenzen der Vergährbarkeit zeigen sich noch Unterschiede in der Geschwindigkeit des Gährprocesses einzelner Hexosen. So gährt d-Fructose langsamer als d-Glucose und demzufolge Rohrzucker langsamer als Maltose;[4]) auch bleibt bei dessen Vergährung naturgemäss der Verbrauch an Fructose etwas zurück, was

---

1) Barfoed, Journ. f. pract. Ch. N. F. VI. 334 (1872).

2) Koch und Hosaeus, C. f. Bact. XVI. 145 (1894).

3) Tanret, C. R. 117. 50 (1893).

4) Jodlbauer, Zeitschr. d. V. f. Rübenzuckerind. 1888. 308. cit. n. A. Mayer, l. c.

man an der zu geringen Abnahme der Linksdrehung des Invertzuckers schon längst constatirt hat (Dubrunfaut).[1])

Die Zymase vergährt Glucose und Fructose gleichmässig, Galactose langsamer, greift Lactose, Mannit etc. nicht an, Rohrzucker wird von ihr, nach vorheriger Inversion durch die im Presssaft vorhandene Invertase, vergohren (Buchner).[2])

Die Geschwindigkeit der enzymatischen Spaltung der Polysacharide steht in keinem constanten Verhältniss zu der Geschwindigkeit der Vergährung, sondern dieses Verhältniss ist bei den einzelnen Hefearten stark wechselnd.[3])

Physikalische Bedingungen der Gährung: Die Gährung verläuft am besten bei ungefähr 25⁰, doch ist die Optimaltemperatur nach äusseren Bedingungen schwankend.

Schon bei unterhalb 53⁰ erlischt die Gährung; bei untergährigen Hefen bisweilen schon bei 38⁰, findet dagegen noch bei ca. 0⁰ statt. Die Optimaltemperaturen sind bei Ober- und Unterhefen verschieden.[4]) Trockene Hefe verträgt ganz gewaltige Temperaturextreme, von — 113⁰ (Bert)[5]) bis zu ca. 100⁰.

Die Dauer der Vergährung ist nach Dumas[6]) annähernd der vorhandenen Zuckermenge proportional, nach A. Brown[7]) jedoch nur bei Concentrationen von 10—12 $^0/_0$; bei höheren und niederen wird weniger vergohren. Ihren zeitlichen Verlauf hat Cochin[8]) dadurch gemessen, dass er fortlaufend die entwickelten Kohlendioxydmengen bestimmt hat. Er fand, dass die Gährung überhaupt erst nach 10—20 Minuten beginnt, was mit der langsamen Diffusion durch die Zellmembranen zusammenhängen soll. A. Brown[7]) hat dann die Curve der Gährungsentwicklung abgeleitet und findet, dass sie sich von der Curve gewöhnlicher chemischer Umsetzungen beträchtlich unterscheidet. Die Diffusion spielt nach Brown (l. c.) und Gayon und Dubourg[9]) bei der Gährung, wenn überhaupt, nur eine sehr geringe Rolle, da die Zucker nicht im Verhältniss ihrer Diffusionsfähigkeit vergohren werden.

Auf den Einfluss anderer physikalischer und chemischer Agentien

1) Dubrunfaut, cit. n. Quévenne, J. pract. Ch. XIV. 334. s. a. Bourquelot, C. R. soc. biol. 1885. 191. 221. 356.
2) Buchner, l. c.
3) Hiepe, ref. von Duclaux, Ann. Inst. Past. XI. 348 (1897).
4) A. Mayer, l. c. S. 149.
5) Bert, C. R. 80. 1579.
6) Dumas, Ann. Chim. Phys. (5.) III. 57. (1874).
7) A. Brown, Journ. Chem. Soc. 61. 369 (1892).
8) Cochin, C. R. 96. 852 (1883).
9) Gayon und Dubourg, C. R. 110. 865 (1890).

auf den Gährprocess können wir erst im biologischen Theile unseres Capitels eingehen, da diese Frage von der Behandlung der biologischen Bedeutung dieser Agentien nicht zu trennen ist.

Die Wärmetönung der Alkoholgährung: Bei den einfach enzymatischen Processen brauchten wir uns mit einer Auseinandersetzung der thermodynamischen Verhältnisse nicht abzugeben; es handelt sich dort um hydrolytische Spaltungen, die auch durch chemische Einflüsse vor sich gehen und bei denen die Wärmeverhältnisse der verschiedenen Stoffe bei diesen einfachen Spaltungen untersucht sind.

Hier aber handelt es sich um einen Vorgang sui generis; nur an der alkoholischen Gährung selbst kann die Wärmetönung der Umsetzung von Zucker in Alkohol und Kohlensäure gemessen werden.

Solche Versuche sind mehrfach angestellt. Dubrunfaut[1]) fand, dass der Wärmezuwachs bei der Gährung in einer 12 %igen Zuckerlösung demjenigen gleich ist, der diese Lösung um 14° C. erwärmen würde = 0,134 von derjenigen Wärme, die der Kohlenstoff der entstehenden Kohlensäure bei directer Verbrennung ergeben würde. Berthelot[2]) schätzte die positive Wärmetönung der Gährung auf $^1/_{15}$ derjenigen, die dieselbe Zuckermenge liefern würde, wenn man sie völlig verbrennt.

Fitz[3]) hat dann zuerst die Fehler, die in diesen ersten Untersuchungen dadurch gemacht waren, dass man den positiven Zuwachs der Lösungswärme des Zuckers, sowie der Mischungswärme des Alkohols, andererseits den negativen Einfluss der verbrauchten Energie beim Entweichen der Kohlensäure nicht berücksichtigt hatte, zu vermeiden gesucht, indem er alle diese Grössen in Rechnung stellte.

Er fand, dass eine 18%ige Zuckerlösung um 21° bei der Vergährung erwärmt wird, dass davon aber 6° auf die positiven Wärmetönungen ausserhalb des eigentlichen Gährvorganges entfallen.

Giebt es ein alkoholisirendes Ferment unabhängig von der Hefe? Die theoretische Anschauung, dass auch die Alkoholgährung ein echter Fermentprocess ist, würde natürlich wesentlich unterstützt werden, wenn es gelänge, einen analogen Vorgang unabhängig von der Hefe als Enzymwirkung aufzufinden.

Ernstliche Nachforschungen nach einem Enzym der Alkoholgährung an anderen Orten, als Buchner sie angestellt hat, liegen kaum

1) Dubrunfaut, C. R. 42. 945 (1856).
2) Berthelot, C. R. 59. 904 (1864).
3) Fitz, Annal. d. Önolog. II. 428. cit. n. A. Mayer, l. c. S. 161.

vor. Und doch giebt es eine Möglichkeit, dass solche Fermente wirklich existiren. Es tritt nämlich unter gewissen Umständen in lebenden Organismen eine Bildung von Alkohol und Kohlensäure auf.

Besonders in höheren Pflanzen ist die Bildung von Alkohol dann beobachtet worden, wenn der Sauerstoff abgeschlossen wurde. Diese Thatsache ist von Rollo[1]) entdeckt und später wiederholt bestätigt worden.

Besonders haben sich dann Pasteur,[2]) Müntz,[3]) Traube,[4]) sowie Lechartier und Bellamy[5]) mit der Frage nach der spontanen Entstehung von Alkohol und Kohlensäure in Pflanzen beschäftigt. Ersterer findet sich hauptsächlich bei Luftabschluss, also im Innern von Holzstämmen (Devaux,[6]) Berthelot)[7]), in Samen (Mazé)[8]) etc.

Auch in abgeschlossenen Früchten findet sich häufig Alkohol vor (Dumont,[9]) Döbereiner,[10]) Gmelin)[11]), doch muss man dabei in Betracht ziehen, dass trotzdem Pilze von der Oberfläche her eingedrungen sein können (Brefeld)[12]). Kohlensäureentwicklung (ohne Alkohol) in Pflanzen bei Sauerstoffabschluss fanden Cahours[13]) in frischem Obst, und Böhm[14]) an grünen Blättern, die unter Wasser gehalten wurden. Auch Effront[15]) glaubt Zymase in Kirschen nachgewiesen zu haben, hat aber nicht auf Alkohol geprüft.

Andererseits bilden auch manche Pilze bei Sauerstoffabschluss in ihren Zellen Alkohol, z. B. Aspergillus (Pasteur), Penicillium, Botrytis, Oidiumarten (Brefeld).[12]) Eng damit zusammenhängend ist auch die Thatsache, dass die Hefenzellen sich selbst vergähren,

---

1) Rollo, cit. n. Pfeffer, Pflanzenphysiologie. Leipzig 1881. S. 363 (dort die ältere Litteratur).

2) Pasteur, C. R. 75. 1056 (1872).

3) Müntz, C. R. 86. 46 (1878).

4) Traube, Chem. B. VII. 885 (1874).

5) Lechartier und Bellamy, C. R. 69. 466 (1869). 75. 1204. 79. 949. 1006.

6) Devaux, C. R. 128. 1346 (1899).

7) Berthelot, C. R. 128. 1366.

8) Mazé, C. R. 128. 1608 (1899). 130. 424 (1900).

9) Dumont, Trommsdorff's Journ. f. Pharm. III. (2.) 563 (1819).

10) Döbereiner, Schweigger's Journ. f. Chem. 54. (1828). 418.

11) Gmelin, Handb. d. theoret. Chemie. 1829. II. 1103. cit. n. Döpping u. Struve, l. c.

12) Brefeld, Landw. Jahrb. (Thiel). 1876. 327.

13) Cahours, Compt. rend. 58. 495. 635 (1864).

14) Böhm, Wiener Acad. 67. (1.) 211. (1873).

15) Effront, Les diastases, l. c. S. 302.

wenn sie bei Sauerstoffabschluss in zuckerfreien Lösungen gehalten werden. Es treten dabei neben Producten proteolytischer Fermente (s. d.) auch Alkohol und Kohlensäure auf.

Interessant ist auch die Mittheilung von Schunck,[1]) dass bei der Krappgährung, der Spaltung der Ruberythrinsäure durch das Erythrozym (s. d.), eine Entstehung von Alkohol, Bernsteinsäure und Kohlensäure nachgewiesen werden kann. Wie Schunck selbst angiebt, sind die Versuche, die lange zurückliegen, nicht unter sicherem Ausschluss von Mikroben vorgenommen; er will sie wiederholen und man darf dem Resultat mit Spannung entgegen sehen.

Auch im Thierkörper kommen alkoholähnliche Stoffe vor, die von Röhmann[2]) aufgesucht worden sind.

Da wenigstens die Möglichkeit vorlag, dass das zuckerzerstörende, glycolytische Ferment (s. d.) im Blut ein solches alkoholisirendes sein könne, da man bei seiner Wirkung Kohlendioxydabspaltung beobachtet hat, so habe ich in mehreren Versuchsreihen Zuckerlösung mit frischem Blut unter Ausschluss von Fäulniss stehen lassen und im Destillat stets eine sehr geringe Menge eines jodoformgebenden Körpers, der nicht Aceton war, nachweisen können; doch war auch das Controlblut (bei sofortiger Destillation) nicht völlig frei davon und eine nähere Untersuchung bei den minimalen Mengen unmöglich.[3])

1) Schunck, Chem. B. 31. 309 (1898).
2) Röhmann, Z. phys. Ch. V. 103.
3) Nicht veröffentlichte Versuche.

Zweiundzwanzigstes Capitel.

Biologie der alkoholischen Gährung.

Das Vorkommen des alkoholisirenden Fermentes: Da die alkoholische Gährung bis jetzt wenigstens nur im engsten Connex mit einer Reihe von pflanzlichen Lebewesen beobachtet ist, so deckt sich diese Fragestellung mit der Discussion der biologischen Seite unseres Problems. Die Geschichte der Forschungen nach der Ursächlichkeit der alkoholischen Gährung fällt von dem Moment an mit der Geschichte der Hefenorganismen zusammen, wo die Bedeutung dieser lebenden Pflanzenzellen durch die classischen Arbeiten von Pasteur unwiderleglich bewiesen war. Vorher war die im allgemeinen Theil gestreifte Ansicht von Gay-Lussac,[1]) dass der Sauerstoff das ausschlaggebende Moment für das Zustandekommen der alkoholischen Gährung sei, die allgemein herrschende gewesen; und als dann endlich die lebenden Zellen in ihrer Bedeutung erkannt wurden, da brauchte es sehr viel Zeit und harte Kämpfe, um den Widerstand der Geister zu überwinden.

Die Entdeckung, dass die Hefe aus Körnchen besteht, machte Leeuwenhoek,[2]) ohne daraus weitergehende Schlussfolgerungen zu ziehen, ebenso wenig waren die beiläufigen Angaben von Desmazières,[2]) der eine organisirte Structur der Hefe annahm, von Bedeutung.

Die eigentliche wissenschaftliche Entdeckung der Hefepilze erfolgte dann fast gleichzeitig von Cagniard-Latour[3]) und Schwann,[4]) deren Schlussfolgerungen noch gestützt wurden durch kurz darauf publicirte Resultate von Turpin,[2]) Kützing[5]) und Bouchardat.[6])

1) Genaueres darüber s. b. A. Mayer, l. c. S. 37—40.
2) cit. n. Pasteur, Die Alkoholgährg., l. c. S. 42. s. a. b. Kützing, l. c.
3) Cagniard-Latour, Ann. d. Chim. et Phys. (2.) 68. 206 (1836).
4) Schwann, Poggendorff's Ann. 41. 184 (1837).
5) Kützing, J. pract. Ch. XI. 385.
6) Bouchardat, Compt. rend. XVIII. 1120 (1844).

Schwann führte zunächst gegen die Gay-Lussac'sche Anschauung ins Feld, dass auch bei Anwesenheit von freiem Sauerstoff keine Gährung eintritt, wenn die Luft des Gefässes vorher ausgeglüht war; und dass ebenso die Gährung ausblieb, wenn er stets neue Luftmassen zuführte, die vorher ausgeglüht waren. Er schloss daraus, dass die pflanzlichen Organismenkeime, die zur Herbeiführung des Gährprocesses nöthig sind, zwar durch gewöhnliche Luft den Gährgemischen zugeführt werden können, nicht aber durch die vorher in der Glühhitze von allem Lebenden befreite Luft.

Gegen diese Resultate sträubte sich die herrschende Richtung in Deutschland ganz gewaltig. Die Mikroorganismen der Hefe wurden theils ignorirt, theils in der bittersten Weise ins Lächerliche gezogen.[1]) Wie Liebig selbst sich absolut, auch später nicht, von dem innigen Zusammenhang von lebenden Pilzen und Gährung überzeugen liess, und unbekümmert darum seine Zersetzungstheorie aufstellte und vertheidigte, haben wir im allgemeinen Theil besprochen. Und so entbrannte denn ein ausserordentlich hartnäckiger Kampf zwischen der neu entstandenen biologischen Richtung, die besonders durch Pasteur vertreten wurde, und der älteren Schule, deren Führer Liebig war.[2]) Es ist, wenn wir die Sache jetzt rückblickend überschauen, sehr zu bedauern, dass die Vertreter einer energetischen, vom Leben unabhängig gedachten Fermentwirkung sich durch die Ableugnung der biologischen Thatsachen in einen so scharfen Gegensatz zu Pasteur und seiner Schule setzten; denn sie verhalfen dadurch eigentlich erst auch der rein biologischen Auffassung zu einem auch die theoretische Deutung der Fermentprocesse stark in Mitleidenschaft ziehenden Siege. Es wäre wohl nicht zu einer so grundlegenden Trennung der „geformten" Fermente von den Enzymen gekommen, wenn die Vertreter der energetischen Auffassung zwar die Thatsache, dass die alkoholische Gährung und andere ähnliche Processe wirklich in sehr engem Zusammenhang mit den lebenden Zellen der Hefe steht, unumwunden zugegeben hätten, dafür aber mit um so grösserer Energie und viel mehr Berechtigung die Frage aufgeworfen hätten, inwiefern denn diese unbestrittene Zusammengehörigkeit mit lebenden Organismen uns einer Erklärung der Fermentprocesse näher bringt. In der That ist zwar die Aufdeckung dieses Zusammenhangs, abgesehen von ihrer grossen Bedeutung für das Gährungsgewerbe, eminent wichtig für die Frage nach

1) s. die tolle Parodie in Lieb. Ann. 29. S. 100.

2) s. z. B. Schmidt, Ann. Chem. u. Pharm. 61. 168 (1847), der angeblich Gährung durch klar filtrirte Hefeextracte sah und die chemische Theorie als „erwiesen" ansieht.

der Entstehung und biologischen Stellung der Fermente überhaupt und für die Sonderstellung dieser speciellen Fermentationsprocesse; eine Erklärung indessen, was ein Fermentprocess ist, kann sie uns nicht geben. Im Gegentheil: die rein biologische Auffassung verzichtet auf jede dynamische Untersuchung des Fermentvorganges: sie reducirt das Problem auf eine Theilerscheinung des uns so viele grosse Räthsel darbietenden Lebensprocesses und glaubt damit, dass sie ein neues Problem unter ein altes, ebenfalls ungelöstes rubricirt, eine „Erklärung" dafür gegeben zu haben. So kämpfte man eigentlich gar nicht um dasselbe Ziel: Liebig verfocht eine theoretische Auffassung, Pasteur in erster Linie einen biologischen Zusammenhang. Freilich stellte Pasteur auch eine aus seinen biologischen Befunden gezogene Theorie der Hefewirkung auf, die aber einerseits auch eine rein biologische war: den Gährungsprocess auch theoretisch völlig von anderen Fermentprocessen loslöste; andererseits aber auch in ihren speciellen Voraussetzungen sich als falsch erweisen liess. Aber da Liebig sich auch gegen die Thatsachen, die der biologischen Auffassung zu Grunde lagen und gegen jeden inneren Zusammenhang zwischen Lebensthätigkeit und Gährung sträubte, so lag es nahe, dass mit der Widerlegung seiner Einwände auch seine ganze Anschauungsweise fallen musste zu Gunsten der auf siegreichen Thatsachen fundirten Pasteur'schen Auffassung.

Und dass thatsächlich lebende Zellen beim Gährungsprocess die grosse Rolle spielen, die ihnen Cagniard la Tour und Schwann zugeschrieben hatten, trat bald klar zu Tage.

Die Befunde, die Schwann's Resultate bestätigten und erweiterten, mehrten sich. Helmholtz[1]) fand, dass die alkoholische Gährung an Membranen Halt macht, was die Annahme der Ursächlichkeit lebender, nicht diffundirender Zellen stützt; Schröder und v. Dusch[2]) zeigten, dass blosses Filtriren der Luft durch dichte Baumwollfilter genügt, um die Gährung in Flüssigkeiten zu verhindern. Alle diese Versuche waren indessen nicht im Stande, den Widerstand der Gegner zu brechen. Da trat Pasteur[3]) auf den Plan, und seine Experimente

1) Helmholtz, J. pract. Ch. **31.** 429 (1844). s. dageg. Döpping und Struve, J. pract. Ch. **41.** 255 (1847).

2) Schröder und v. Dusch, cit. n. Mayer, l. c. S. 55.

3) Pasteur hat seine Arbeiten in zahlreichen Publicationen niedergelegt. s. u. a. C. R. **50.** 303. 849. 1083. **51.** 348. 675. **52.** 1260. Ann. d. Chim. et Phys. (3.) **58.** 323. (4.) **25.** 145 (gegen Liebig), ferner zusammenfassend: Etudes sur la bière, le vin; die Alkoholgährung, dtsch. von Griessmayer, Stuttgart 1871. Zweite Aufl. 1878. Ferner die glänzende kritische Zusammenfassung von Dumas, Ann. de Chim. et Phys. (5,) III. 57.

erwiesen mit völliger Sicherheit, dass thatsächlich lebende Keime nöthig sind, um eine Gährung zu veranlassen, und dass diese lebenden Keime sehr schnell zu den Flüssigkeiten Zutritt erlangen, sobald man sie der Luft aussetzt; dass man dagegen gährfähige Flüssigkeiten sehr lange unzersetzt aufbewahren kann, wenn man sie von der gewöhnlichen Atmosphäre abschliesst. Andererseits konnte Pasteur auf den Filtern, durch die er die Luft streichen liess, die Keime jener Organismen sammeln, und mit ihnen auf vorher ausgekochten, also keimfreien Flüssigkeiten direct Gährung erzeugen. Er wies ferner nach, dass auf hohen Bergen, wo die Luft sehr arm an Keimen ist, man meist die Flüssigkeiten durch Oeffnen der Kolben zeitweilig der Luft aussetzen kann, ohne dass Gährung eintritt. Ausserdem erhärtete er die biologischen Zusammenhänge dadurch, dass er bei jeder Gährung das Wachsthum der Hefe nachweisen konnte, parallel mit der Ausdehnung des Gährprocesses, und fand, dass mit der Beeinflussung der biologischen Functionen der Hefepilze durch Wechsel der Ernährungsbedingungen auch die Intensität des Gährprocesses schwankt.

So war denn durch die Pasteur'schen Arbeiten, denen unabhängig von ihm entstandene, im gleichen Sinne zielende Arbeiten von van den Broek[1]) und Hoffmann[2]) zur Stütze dienten, die Nothwendigkeit der Anwesenheit lebender Hefezellen zur Evidenz erwiesen. Von van den Broek's Versuchen sei besonders der Nachweis erwähnt, dass frischer, ungekochter Traubensaft nicht gährt, wenn man die Luftkeime abschliesst.

Dazu kam andererseits der ebenfalls von Pasteur[3]) geführte Nachweis, dass von einer Zersetzung der Hefe, wie sie Liebig annahm, und die man nach Döbereiner's Vorgang in dem Freiwerden ihres Stickstoffs in Form von löslichen Ammoniaksalzen zu sehen geglaubt hatte, in diesem Sinne bei der Alkoholgährung keine Rede ist. Er konnte zeigen, dass während des Gährprocesses gar kein Ammoniak abgespalten wird, sondern im Gegentheil Ammoniaksalze noch dabei verbraucht werden können.

Durch diese Keulenschläge war denn doch der Widerstand der Liebig'schen Schule gegen die biologischen Thatsachen schwer erschüttert und Liebig selbst musste in seinem letzten umfassenden Versuche,[4]) seine Position zu halten, den Parallelismus der Entstehung von lebenden Organismen mit der Gährung zugestehen.

1) van den Broek, Ann. d. Chem. u. Pharm. **115.** 75 (1860). s. a. Wurtz, Repert. d. Chim. pure. 1861. S. 29.

2) Hoffmann, Bot. Ztg. 1860. S. 49.

3) Pasteur, Alkoholgährg., l. c. S. 56.

4) Liebig, seine Annalen. **153.** (1870). S. 1.

Ausser einigen kleinen Vorwürfen gegen Pasteur, die an sich wenig berechtigt und ziemlich gleichgiltig sind, führt er dann als Hauptargument an, dass die Hefe ja thatsächlich ein lebloses Enzym (die Invertase) absondert, das einen Theil ihrer Function, die Spaltung des Rohrzuckers, vollzieht. Diese Thatsache verwerthet er in dem Sinne, dass vielleicht auch auf die ganze übrige Function der Hefe auf ein von ihr producirtes Ferment zurückzuführen sei. Er hat zwar diese Deutung seines Einwandes nirgends klar formulirt, aber die ganze Kampfmethode weist darauf hin, dass er eben an eine principielle Trennung des Gährprocesses von dem Lebensvorgang der Hefezellen in dem Sinne dachte, dass zwar die Fermentproduction, nicht aber die Fermentwirkung untrennbar mit der Vegetation der Pilze verbunden sei; wie dies ja völlig dem theoretischen Urgrund seiner Anschauungsweise — abgesehen von seiner unhaltbaren Annahme einer Zersetzung — entspricht. Aber diese, wie wir jetzt wissen, sehr wohlbegründete Annahme, die späterhin in Berthelot, Traube und Hoppe-Seyler so ziemlich die einzigen Verfechter fand, wurde in den Hintergrund gedrängt durch die Unmöglichkeit des experimentellen Nachweises solcher Enzyme, die mit unfehlbarer Sicherheit auf den untrennbaren Zusammenhang beider Processe hinzuweisen schien. Die rein theoretische Frage blieb bei dieser sich meist auf experimentelle Streitfragen beschränkenden Discussion, wie wir oben sahen, leider viel zu sehr ausser Acht; Liebig stellte mit zu wenig Nachdruck die Kabinetsfrage, inwiefern denn die vitalistische Theorie die Fermentvorgänge erklärt; er konnte das auch nicht recht, weil seine eigene Erklärung, die Zersetzungstheorie, scheinbar von ihm selbst nicht mehr aufrecht erhalten werden konnte; kurz, Liebig's Versuch, den Ansturm der vitalistischen Auffassung aufzuhalten, hatte weiter keinen Erfolg, als auf einige kleine Schwächen der Pasteur'schen Untersuchungen wirksam hingewiesen zu haben; die experimentellen Resultate waren gegen Liebig; weder das Studium der Invertase, noch der ebenfalls nach aussen hin wirksamen katalytischen, Wasserstoffsuperoxyd zersetzenden Kraft der Hefe liessen sich im Sinne einer Trennung des Lebensprocesses von der Gährthätigkeit wirksam verwerthen;[1]) auch die spärlichen, oben gestreiften Befunde von nicht völliger Parallelität des Lebens und der Fermentthätigkeit wurden nicht beachtet; der Sieg der vitalistischen, in ihrem Thatsachenmaterial absolut einwandsfreien Anschauung über die auf falschen Fundamenten aufgebaute energetische Theorie wurde ein so vollständiger, dass auch Nägeli in seiner molecular-physikalischen, also energe-

1) A. Mayer, Landw. Versuchsstat. XVI. 277.

tischen Theorie der Fermentationen vor dem Tabu der „geformten" Fermente Halt machte, indem er annahm, dass die Atomschwingungen, die zum Zerfall des Zuckers führten, nur von lebenden Zellen ausgehen könnten; und dass auch die besten Kenner der alkoholischen Gährung, obwohl sie einsahen, dass diese vitale „Erklärung keine sehr tiefgehende" ist,[1]) sich damit begnügten, sie als einen „Inductionsschluss" zu adoptiren und damit auf jeden Versuch einer dynamischen Erklärung der von der Hefe ausgelösten fermentativen Vorgänge zu verzichten.

Dass mit dieser Annahme jeder Zusammenhang mit den „Fermentprocessen" logischer Weise wegfällt, und dass Hansen diese sehr richtige Consequenz auch gezogen hat, haben wir im „Allgemeinen Theil" auseinander gesetzt. Wir kommen in der Verfolgung dieser rein vitalistischen Anschauung zur Identificirung der „geformten Fermente" mit dem Stoffwechsel überhaupt, womit sich das Problem der gesonderten Behandlung entzieht.

Wenn wir unsere Betrachtung kurz resumiren: Theoretisch kann man die fermentative Function von dem Lebensprocess als solchem trennen, und dass diese theoretische Scheidung sich auch experimentell begründen lässt, das nachgewiesen zu haben, ist das grosse Verdienst von E. Buchner. Aber auch ohne diese experimentelle Stütze unserer Anschauung können wir theoretisch auf das Bestreben Liebig's zurückgreifen, die Fermentprocesse energetisch definiren zu wollen, wenn wir auch seine Theorie als falsch erkennen müssen; ohne freilich vorläufig im Stande zu sein, eine wirkliche, bessere Theorie der Fermentwirkungen, mag es sich um Enzyme oder „geformte" Fermente handeln, an ihre Stelle zu setzen.

Wollen wir nun von den theoretischen Auseinandersetzungen zu der praktischen Biologie der alkoholischen Gährung übergehen, so müssen wir nochmals betonen, dass es nicht im Plane dieser Arbeit liegen kann, eine auch nur annähernd ausführliche Besprechung der Morphologie und Physiologie derjenigen Mikroorganismen zu geben, die man als die Fermentquellen für diesen Process zu betrachten hat. Die Morphologie werden wir überhaupt nur in ihren Grundzügen streifen, ebenso die Systematik; die Physiologie nur insofern genauer behandeln, als sie mit der fermentativen Function zusammenhängt.

Die Hefe besteht aus mikroskopisch kleinen, kugeligen Zellgebilden.

---

1) A. Mayer, Gährungschemie, l. c. S. 67. Dieses Zugeständniss scheint indessen auch nur im Wesentlichen eine Reverenz vor Liebig zu sein, die M. dem grossen Gelehrten, auch wenn er irrt, in pietätvoller Weise nicht versagt.

Schon die oberflächliche Betrachtung der wichtigsten Hefearten lässt in der Configuration der einzelnen Zellen und ihrem Zusammenhang gewisse Unterschiede erkennen. In der untergährigen Bierhefe sind die Zellen meist einzeln oder nur zu zweien angeordnet, während in der obergährigen Hefe sich Stränge mit reichen Verzweigungen aus den einzelnen Zellen bilden. Die Weinhefe endlich hat kleinere Einzelzellen als die Bierhefe.

Aus diesen augenfälligen Unterschieden wurden indessen allgemein acceptirte systematische Trennungen nicht abstrahirt.

Eine grundlegende Bedeutung für die botanische Classification der Hefepilze gewannen erst die Arbeiten von Reess,[1]) denen sich dann später vor Allem die classischen, für die Gährungstechnik von der grössten Bedeutung gewordenen Arbeiten von Hansen[2]) anschlossen, der uns lehrte, die Gährungspilze in „reinen Rassen" zu züchten.

Reess benannte alle Alkoholgährungspilze mit dem von Meyen herrührenden einheitlichen Gattungsnamen Sacharomyces, der jetzt allgemein adoptirt ist.

Er nahm für die Bierhefe nur eine Species an, die er als Sacharomyces cerevisiae bezeichnete und erklärte die Unterschiede, speciell auch die zwischen Oberhefe und Unterhefe, für Spielarten und constant gewordene Vegetationsformen derselben Species. Für die andern alkoholischen Gährungen, Wein, Branntwein etc. treten dagegen andere Arten in Function.

Der Sacharomyces cerevisiae misst im grössten Durchmesser 8—9 μ, und besitzt etwas länglich geformte Zellen.

Aus der Weinhefe hat Reess noch im Wesentlichen folgende Arten beschrieben:

S. ellipsoideus[3]) ist schwach elliptisch geformt und hat 6 μ im Durchmesser. Er zeigt sehr reiche Sprossverzweigungen. Er vergährt auch Bierwürze, ohne selbst durch mehrere Generationen hindurch seine characteristische Gestalt einzubüssen, weshalb man Grund hat, ihn als eine eigene Species zu führen. Jacquemin[4]) hat mit Hilfe des S. ellipsoideus aus Gerste einen „Gerstenwein" erhalten. Neben diesem spielt bei der Weingährung noch der S. apiculatus eine Rolle, der eine längliche, zweimal leicht eingeschnürte Gestalt besitzt und 6—8 μ lang ist. Er ist dadurch interessant, dass er weder Invertase noch

---

1) Reess, Untersuchg. üb. d. Alcoholgährungspilze. Leipzig 1870.

2) Hansen, Zusammenfassung in: „Untersuchungen aus der Praxis d. Gährungsindustrie". 1895. (dort Litteratur).

3) Reess, Ann. d. Oenolog. II. 145. cit. n. A. Mayer, l. c.

4) Jacquemin, Z. f. Rübenzuckerind. XX. 267 (1888).

Maltase[1]) producirt. Beide Arten finden sich in der Natur an den Trauben vegetirend. Er soll nach Müller-Thurgau[2]) indessen der Weingährung schädlich sein. Galactose greift er nicht an (Voit).[3]) Im Winter ist er im Erdboden nachzuweisen (Hansen).[4]) Dazu kommt als dritte Form der lange (bis 20 μ), keulenförmige S. Pastorianus, der besonders bei der Nachgährung zuckerreicher Weine eine Rolle spielt.

Alle diese Arten zerfallen wieder in Spielarten von sehr verschiedenem praktischen Werthe.

Die botanische Einheitlichkeit der Gattung Sacharomyces beruht nach Reess in einer für sie typischen Fruchtbildung, die unter gewissen Bedingungen die gewöhnliche Vermehrung durch Sprossung unterbricht und auf einer Bildung von 2—4 Sporen in den Mutterzellen beruht.

Sie tritt besonders bei Nahrungsmangel, sowie bei reichlichem Sauerstoffzutritt und bei gewissen Temperaturbedingungen auf, auch z. B. bei Presshefen (Schuhmacher).[5]) Reess bezeichnete sie als Ascosporenbildung und in Folge dessen rechnet man die Sacharomyces-Arten botanisch zu den Ascomyceten.

Wir finden also eine Reihe von Sacharomycesarten als Träger des alkoholischen Fermentes. Ausser den genannten finden wir noch u. A. S. octosporus,[6]) S. exiguus, der Fructose schneller als Glucose vergährt (Gayon und Dubourg)[7]), S. Ludwigii[8]), S. Marxianus. Ersterer enthält wie der S. apiculatus keine Invertase, letztere beiden Formen keine Maltase (s. d.). S. fragrans enthält keine Maltase und kann auch Stärke nicht angreifen (Beyerinck).[9]) Dazu kommen dann die Milchzuckerhefen, die Lactase produciren, z. B. S. tyrocola, S. lactis[10]).

Ausserdem giebt es noch einige Sacharomyceten im botanischen Sinne, die nicht Zucker zu Alkohol vergähren, z. B. S. membranaefaciens (Hansen) und das früher so genannte Mycoderma vini, der Weinkahmpilz, den Reess ebenfalls zu den Sacharomyceten gestellt hat.

1) Amthor, Z. f. physiol. Ch. XII. 558 (1888).

2) Müller-Thurgau, Jahresber. d. deutsch-schweizer. Versuchsstat. f. Obst, Wein u. Gartenbau. VII. Chem. Centralbl. 1899. S. 916.

3) Voit, Z. f. Biolog. **29**. 149.

4) Hansen, Z. f. ges. Brauw. 1881. 449.

5) Schuhmacher, Wiener Acad. Sitzb. Math. Nat. Cl. **70**. I. 157 (1874).

6) Der aber von Beyerinck, C. f. Bact. XVI. 49 (1894), als einer anderen Gattung angehörig, als Schizosacharomyces bezeichnet wird.

7) Gayon und Dubourg, C. R. **110**. 865 (1890).

8) s. d. Dienert, C. R. **128**. 569 (1899). (Galactosegährg.).

9) Beyerinck, C. f. Bact. (II.) I. 226 (1895). (dort Uebersicht).

10) Duclaux, Ann. Inst. Past. I. 573 (1886). Adametz, C. f. Bact. V. 116 (1889). Kayser, Ann. Inst. Past. V. 395 (1891).

Interessant sind die zahlreichen Versuche, Beziehungen zwischen den Schimmelpilzen und der Hefe herzustellen. Ueber diese Frage ist eine beträchtliche Litteratur zu Stande gekommen.[1])

Nachdem man jetzt zur Klarheit darüber gelangt ist, beschränkt sich dieser Zusammenhang auf Folgendes:

Irgend welche wirklichen intimen Beziehungen zwischen diesen beiden, botanisch ganz getrennten Pilzgattungen bestehen nicht; die Befunde, die dem Gedanken Raum geben, dass man etwa echte, sprosstreibende Hefepilze in echte mycelbildende Schimmelpilze überführen könne, beruhen auf mangelhafter Reinzüchtung. Indessen hat einerseits Hansen[2]) gefunden, dass einige echte Sacharomycesarten unter gewissen Bedingungen, besonders bei reichlicher Gegenwart von Sauerstoff, Häute und mycelähnliche Formen bilden, die erst durch die typisch bleibende Sporenbildung als wirkliche Sacharomyceten identificirt werden können.

Andererseits aber sind einige Schimmelpilze, Mucorarten und Aspergillus Oryzae (Juhler)[3]), im Stande, bei Sauerstoffabschluss hefeähnliche Formen anzunehmen und Sprossen zu bilden. Diese Formen erzeugen dann auch alkoholische Gährung, die sich nur wenig von der typischen Sacharomyces-Gährung unterscheidet. Besonders Mucor mucedo und racemosus haben diese Fähigkeit (Fitz).[4]) Sie bilden relativ mehr Kohlensäure, wie Bierhefe; neben Bernsteinsäure konnte Glycerin nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden; sie enthalten zwar Invertase, aber keine Lactase. Auch Mucor alternans und circinelloides können Alkoholgährung bewirken (Gayon und Dubourg).[5]) Auch einige andere Pilzformen, so besonders die wegen ihrer eigenthümlichen Invertasebildung interessante Monilia candida können die alkoholische Gährung einleiten, ferner auch der Soorpilz, der neben Alkohol auch Nebenproducte, u. a. Aldehyd liefert (Linossier und Roux).[6])

Alkoholbildend ist auch die Kojihefe, in der der Aspergillus Oryzae gefunden wird, und die das Saké, den Reiswein der Japaner, erzeugt (s. b. Takadiastase). Insbesondere hat Juhler (l. c.) die Umwandlung des Aspergillus Oryzae in einen Sacharomyces behauptet und daraus weitgehende Folgerungen in Bezug auf die Abstammung der Sacharomyceten gezogen. Doch sind seinen Befunden Klöcker und Schiönning[7]) entgegengetreten. Schwer erschüttert wird diese Lehre durch die Angabe von Kosai und Yabe,[8]) dass

---

1) s. dar. A. Mayer, l. c. S. 97ff. Jörgensen, C. f. Bact. (II.) I. 321 (1895).

2) Hansen, cit. n. Mayer, ebda.

3) Juhler, C. f. Bacteriol. (II.) I. 16. 326 (1895).

4) Fitz, Chem. B. VI. 48 (1873). IX. 1352 (1876). s. a. Brefeld, Chem. B. VII. 282 (1875).

5) Gayon und Dubourg, Ann. Inst. Past. I. 525 (1886).

6) Linossier und Roux, C. R. 110. 868 (1890).

7) Klöcker und Schiönning, C. f. Bact. (2.) I. 777 (1895).

8) Kosai und Yabe, C. f. Bact. (2.) I. 619 (1895).

ausser dem Aspergillus Oryzae noch ein anderer, Hefepilz in der Kojihefe vorhanden ist, dem die eigentliche Gährungsfunction obliegt. Dass nicht dem Aspergillus Oryzae selbst die alkoholisirende Function zugeschrieben werden darf, hat schon Büsgen[1]) gegenüber älteren Untersuchern ausgesprochen. Ein ähnliches Zusammenwirken von Schimmelpilzen und Sacharomyceten scheint bei der alkoholbildenden tonkinesischen Hefe vorzuliegen, wo Calmette[2]) neben dem Diastase bildenden Amylomyces Rouxii noch dem S. Pastorianus ähnliche alkoholbildende Sacharomyceten auffand.

Alkoholbildende Sacharomyceten spielen auch in der pathologischen Mycologie eine Rolle, da sie in seltenen Fällen schwere Krankheiten erzeugen, so z. B. der S. hominis (Busse),[3]) S. subcutaneus tumefaciens (Curtin),[4]) S. neoformans und litogenes (Sanfelice).[5])

Verschiedenheiten in der Fermentwirkung: Die einzelnen Sacharomycesarten verhalten sich in Bezug auf ihre alkoholisirende Kraft, und damit auf ihre technische Brauchbarkeit, durchaus nicht gleichmässig. Abgesehen davon, dass einzelne von ihnen, wie z. B. Sacharomyces Mycoderma überhaupt nicht gähren, ist auch ihre quantitative Leistungsfähigkeit durchaus verschieden. Zum Theil hängt dies ja davon ab, dass einzelnen von ihnen die zur hydrolytischen Spaltung des Rohrzuckers resp. der Maltose nöthigen Enzyme fehlen, sodass ihnen schon im zu vergährenden Substrat Hindernisse in den Weg treten. Andererseits wächst mit zunehmender Vergährung der Alkoholgehalt der Flüssigkeit, der bei einem gewissen Gehalt alle Hefewirkung aufhebt, und gegen den die einzelnen Sacharomycesarten verschieden empfindlich sind. So stellt z. B. S. apiculatus relativ schnell, bei einem geringeren Alkoholgehalt, seine Thätigkeit ein, wenn er nicht, wie Müller-Thurgau[6]) meint, überhaupt unbrauchbar für die Weingährung ist. Noch empfindlicher gegen Alkohol sind die Mucor-Hefen.

Praktisch von grösster Wichtigkeit ist es indessen, dass manche echte Sacharomyceten Spielarten bilden, die durch Production schlecht schmeckender oder Trübungen veranlassender Nebenproducte

---

1) Büsgen, Ber. d. d. bot. Ges. III. S. LXVI (1885).
2) Calmette, Ann. Inst. Past. VI. 604 (1892).
3) Busse, C. f. Bact. XVI. 175 (1894).
4) Curtin, Ann. Inst. Pasteur. X. 449 (1896). (dort Litteratur).
5) Sanfelice, Z. f. Hyg. XIX. 32. 394 (1896).
6) Müller-Thurgau, l. c. Chem. Centralbl. 1899. S. 916.

das Bier verderben. Hansen's[1]) grosses Verdienst ist es, nachgewiesen zu haben, dass diese Schädlinge nicht etwa anderen Pflanzengattungen angehören, sondern dass es wirklich Sacharomyceten sind.

Er hat dann alle diese Spielarten in mühevollen Arbeiten in Reinculturen von den brauchbaren isolirt und die Brauereien gelehrt, durch Anwendung von reingezüchteten Sacharomyces-Rassen, die reine Gährungen erzeugen, eine constant gute Beschaffenheit des Bieres zu gewährleisten, während man früher, bevor man diese Reinculturen besass, fast dem Zufall preisgegeben war. Es existiren jetzt eine ganze Reihe von rein gezüchteten, rein erhaltenen guten Heferassen, die je nach dem Wunsche des Consumenten ein Bier von verschiedenem, aber stets gleichmässigem Wohlgeschmack erzeugen.

Als schädliche Hefen erwiesen sich besonders einige Rassen von S. ellipsoideus (II) und S. Pastorianus (I und III).

Versuche, nach diesen Principien auch für die Weingährungsindustrie, die bisher im Gegensatz zur Brauereitechnik mit nicht künstlich zugesetzten Hefen arbeitete, die Vortheile der Hefereinzüchtung zu erlangen, sind besonders von Wortmann[2]) mit gutem Erfolge angestellt worden, ohne allerdings bis jetzt auf die Praxis von so total umwälzendem Einfluss zu sein, wie Hansen's Versuche für das Brauwesen.

Was Hansen planvoll und mit grosser Sorgfalt erreicht hat, das wird allerdings mitunter durch gewisse empirisch ausprobirte Bedingungen von selbst gewonnen, dass nämlich ungewünschte Nebenreactionen ganz oder fast ganz sich ausschliessen lassen. Das gilt besonders für den allerdings in puncto des Wohlgeschmacks nicht so empfindlichen Brennereibetrieb (Delbrück).[3])

Doch hat man auch hier schon angefangen, nach dem Hansen'schen Verfahren vorzugehen, z. B. bei der Rumfabrikation (Greg).[4])

Beziehungen zwischen dem Leben der Hefe und ihrer Fermentwirkung: Wenn man lebende Hefezellen in einer Zuckerlösung cultivirt, so gehen darin nach unserer Anschauung zwei theoretisch zu trennende Processe vor sich. Einerseits die vitalen Functionen der Pilze, ihr Leben im engeren Sinne und andererseits ihre fermentative Function, die Gährung. Während der letztere Vorgang sich ausschliesslich auf den Zucker und zwar auf einfache d-Hexosen beschränkt, braucht der Organismus der Hefe naturgemäss auch noch andere Nährstoffe. Ihren Kohlenstoffbedarf kann die Hefe aus dem Zucker decken, den sie zu vergähren resp. zu verbrauchen im

1) Hansen, Untersuch. a. d. Praxis d. Gährungsindustrie. 1895.

2) Wortmann, Landwirthsch. Jahrbücher. 23 (1894). 535. s. a. Koch's Jahresb. 1894. 168.

3) *Delbrück, Wochensch. f. Brauerei. 1895.

4) Greg, Centr. f. Bact. XV. 46 (1894). (ref.).

Stande ist; dagegen müssen ihr zum Aufbau ihrer körperlichen Eiweissstoffe noch stickstoffhaltige Nährmaterialien zugeführt werden.

Dass eine Stickstoffquelle nothwendig ist, ist a priori selbstverständlich, indessen musste doch den Gegnern der vitalistischen Anschauung gegenüber auch der exacte Beweis geliefert werden. Dies hat schon Pasteur gethan, der zeigte, dass in einer reinen stickstofffreien Zuckerlösung eine Vermehrung der Hefe, also eine Neubildung von Zellen, nicht eintritt.

Wir müssen uns dann weiterhin fragen, welche stickstoffhaltigen Substanzen der Hefe als Nährstoff dienen können.

Als solche kommen zunächst Eiweissstoffe in Betracht. Pasteur führte den Nachweis, dass ein Extract der Hefezellen selbst, der eiweissähnliche Substanzen enthält, ein ausreichendes Nährsubstrat für die Pilze darstellt, dass dagegen die dem Hefenauszug beigemengten anorganischen Bestandtheile, wie sie die Hefenasche enthält, ein Leben der Hefe nicht ermöglichen.

Der freie Stickstoff der Atmosphäre kann von der Hefe, wie von den meisten anderen Pflanzen, nicht assimilirt werden.

Dagegen zeigen die Hefezellen ihren exquisit pflanzlichen Stoffwechsel darin, dass sie, wie auch schon Pasteur gefunden hat, die Ammoniaksalze zu verwerthen im Stande sind. Als verwendbare Ammoniaksalze kommen nicht nur weinsaures, sondern auch salpetersaures, oxalsaures Ammon u. a. in Betracht.

Als fernere sehr wichtige Stickstoffquellen finden wir diffusible Proteïde, also speciell Peptone und ähnliche Stoffe. Ferner die Proteïde des Eidotters und das Syntonin. Dagegen erwiesen sich höher zusammengesetzte Eiweissstoffe, z. B. Albumin und Caseïn als ungeeignet für die Ernährung der Hefe, wie A. Mayer [1]) constatirte, der einen Zusammenhang zwischen Diffusibilität und Ernährungswerth feststellte.

Als weitere Stickstoffquellen erwiesen sich Amidosäuren und Stoffe ähnlicher Zusammensetzung: Allantoïn, Guanin, Harnsäure, Acetamid, Asparagin; weniger Kreatin und Kreatinin. Andere stickstoffhaltige Stoffe erwiesen sich als ungeeignet, so Caffeïn und Hydroxylamin. Salpetersaure Salze können die Sacharomycesarten nicht verwenden,[1]) wohl aber Mucor (Fitz).[2]) Nitrite sind direct schädlich (Laurent).[3])

Dass dieser Stickstoff nicht nur zu neuer Eiweissbildung verwendet wird, sondern dass in den Hefezellen ein wirklicher Stickstoffumsatz stattfindet, hat A. Mayer dadurch nachgewiesen, dass der nutzbare Stickstoff thatsächlich verbraucht wird, und Hefepilze in Nährmedien,

---

1) Genaueres über dieses Thema und Litteratur s. b. A. Mayer, Gährungschemie, l. c. S. 124ff.

2) Fitz, Chem. B. VIII. (1875). 540.

3) Laurent, Ann. de l. soc. belg. de microscopie. XIV. (Koch's Jahresb. üb. Gährungsorg. 1890. S. 54). Dort eine umfassende Abhandlung über die Ernährung der Hefe, auf die ich hier nur hinweisen kann.

die weniger assimilirbaren Stickstoff enthalten, ipso facto in ihrer Lebensthätigkeit und Fermentthätigkeit geschädigt werden. Der Stickstoffgehalt der Hefe wird allmählich geringer und zwar nicht nur durch Vertheilung auf eine grössere Anzahl von Zellen, sondern auch absolut, d. h. die Hefe scheidet in die umgebenden Medien eine stickstoffhaltige Substanz aus, die nicht in vollem Umfange zur nochmaligen Assimilirung verwendet werden kann. Die Natur dieser Ausscheidungsproducte ist noch nicht festgestellt.

Ausser Kohlenstoff und Stickstoff braucht die Hefe natürlich auch Nährsalze; auch diesem Postulate ist von Pasteur Genüge gethan worden, der nachwies, dass Zucker und Ammoniaksalze allein die Hefe nicht ernähren, wohl aber nach Zusatz von Hefenasche.

Die Frage, welche Salze als unentbehrlich für die Hefe anzusehen sind, ist bei A. Mayer[1]) sehr ausführlich behandelt, wir entnehmen dieser Darstellung nur die Thatsachen.

Unentbehrlich sind demzufolge Eisen, Kalium (nicht durch Natrium ersetzbar), Magnesium, Phosphor; sehr wahrscheinlich Schwefel, indess nicht in Form von Schwefelsäure; entbehrlich dagegen sind Calcium und Natrium.

Ein nothwendiges Nährmittel der Hefe ist natürlich auch das Wasser. Wiesner[2]) fand, dass Hefe zwischen 40 und 80 % Wassergehalt lebensfähig und gährfähig ist, sie erträgt indessen eine langsame Austrocknung. Durch rasche Schwankungen in der Concentration, womit natürlich plötzliche Aenderungen des osmotischen Druckes einhergehen, können die Hefezellen geschädigt und sogar getötet werden.

Mit der Frage nach dem Wassergehalt steht offensichtlich die Frage nach dem Einfluss der Concentration der zu fermentirenden Zuckerlösung im engsten Zusammenhang. Das Optimum liegt bei 8 %, bei ca. 35 % wird die Gährthätigkeit schon sehr schwach. Aehnlich wirken durch Wasserentziehung concentrirte Glycerin- und Salzlösungen schädigend. Mucorhefen vertragen eine Concentration von mehr als 7 % nicht mehr gut.[3])

In diesen Nährmedien entfaltet also die Hefezelle ihre vitalen Functionen, sie assimilirt, baut sich ihren Zellleib aus Kohlenstoff, Stickstoff, Nährsalzen und Wasser auf und dissimilirt auch in regressivem Stoffwechsel, wobei, wie wir sahen, noch nicht näher bekannte stickstoffhaltige Endproducte neben den kohlenstoffhaltigen,

1) A. Mayer, l. c. S. 137ff. (dort auch Litteratur).

2) Wiesner, Wiener Acad. Sitzb. 59. II. (1869). S. 495.

3) cit. n. Flügge, Microorganismen. 1896. 229.

die wir allerdings nicht mit völliger Sicherheit als Stoffwechselproducte bezeichnen können, entstehen. In ihrem Zellleib producirt sie fernerhin die Zymase, ihr specifisches Ferment und vollzieht mit dessen Hilfe ihre Function: die alkoholische Spaltung der Zucker.

Zu den vitalen Functionen des Hefepilzes gehört natürlich auch seine Vermehrung. Solange die Hefezelle genügendes Nährmaterial zur Verfügung hat, so lange vermehrt sie ihre Gesammtmasse, unter normalen Verhältnissen vorwiegend durch Sprossung. Die Menge der neu entstehenden Hefe steht unter normalen Bedingungen in einem annähernd bestimmten Verhältniss zu ihrer fermentativen Function, gemessen an der Production von Alkohol. Nach A. Mayer[1]) beträgt diese Neubildung 1,38—2,03 % trockener Hefesubstanz.

Nach A. Brown[2]) hängt die schliessliche Anzahl von Hefezellen fast ausschliesslich von der Zusammensetzung des Nährmediums, nur wenig von der Menge der ursprünglich eingesetzten Zellen ab. Wenn er in einem Versuch die achtfache Menge von Zellen in dem gleichen Nährmedium aussetzte, als in einem andern, so war doch nach beendigter Fermentation die Zahl der Zellen fast gleich. Bei einer gewissen Menge tritt also keine Vermehrung, ja sogar bisweilen theilweiser Zerfall ein.

Wir müssen hier nochmals auf die theoretisch so wichtige Frage zurückkommen, ob denn wirklich stets die vitalen Vorgänge der Hefe untrennbar mit den fermentativen zusammenfallen.

Wenn wir die entstehenden Nebenproducte als nicht fermentative Stoffwechselproducte ansehen, dann haben wir allerdings, wie oben gezeigt, in ihren Entstehungsbedingungen, besonders in quantitativer Beziehung, Gründe genug, um eine blosse Parallelität beider Vorgänge anzunehmen. Aber auch bei genauerem Studium der reinen Alkoholgährung lassen sich einige Gründe für unsere Anschauung ins Feld führen.

So fanden Mach und Portele,[3]) dass die vegetative und die gährende Energie nicht gleichzeitig ihr Maximum erreichen, sondern dass die Hefe erst schneller wächst als gährt, und dass erst später das Maximum der Gährwirkung erreicht wird.

Ferner hört die Gährthätigkeit nicht sofort auf, wenn die Hefe aus Mangel an assimilirbarem Material ihre Vermehrung einstellt. Es ist dann nach unserer Vorstellung noch eine gewisse Quantität Ferment vorhanden, die erst verbraucht werden muss.

---

1) A. Mayer, l. c. S. 119.

2) A. Brown, Journ. chem. Soc. 61. 369 (1892).

3) Mach und Portele, Landw. Versuchsstat. 41 (1892). 261.

Interessant ist auch der Gegensatz, dass zwar die assimilatorische Verwendbarkeit von Proteïdsubstanzen für die Hefe sehr wesentlich von ihrer Diffusionsfähigkeit abhängt,[1]) dass dagegen die Vergährungsgeschwindigkeit der Zucker gar nicht damit in Beziehung zu bringen ist.[2]) Wenn wir ferner die Einwirkung verschiedener physikalischer und chemischer Agentien auf die Hefe untersuchen, so finden wir zwar im Allgemeinen eine sehr weitgehende Uebereinstimmung zwischen dem Verhalten der Hefe als lebendem Organismus und des Fermentes; und doch weisen einige spärliche Beobachtungen auch hier darauf hin, dass eine völlige Abhängigkeit der Fermentation vom Leben nicht besteht.

Freilich, eine so leichte Differenzirung, wie wir sie bei den gewöhnlichen Enzymen finden, ist bei der Hefezymase unmöglich; ihre Invertase etc. können wir leicht zur Demonstration bringen, wenn wir durch gewisse Gifte die vitale Zellenergie ausschalten; wenn wir aber dasselbe bei dem alkoholisirenden Ferment machen wollten, so würden wir uns bald davon überzeugen, dass im Grossen und Ganzen alle die Eingriffe, welche den vitalen Functionen der Hefe Schaden zufügen, auch ihre Fermentenergie in demselben Maasse schädigen. Sobald eben die Mutterzelle getötet oder schwer geschädigt wird, ist auch das sehr labile Ferment sehr schnell vernichtet.

Dass hohe Temperaturen, starke Säuren und Basen die Zelle mit dem Ferment vernichten, ist noch in völliger Analogie mit den gewöhnlichen Enzymen.

Sobald wir indessen die gewöhnlichen, für die Enzyme fast indifferenten Protoplasmagifte heranziehen, ändert sich die Sachlage völlig. Alle jene Gifte, die für die lebende Zelle verderbenbringend sind, heben auch die Gährfähigkeit der Hefe auf.

Als solche Mittel, welche man ja gerade zur Demonstration der Hefenenzyme angewandt hat, seien nur Chloroform, Toluol, Sublimat genannt. Dagegen wirken viele Salze, z. B. die des Eisens und Mangans, nicht schädlich, wohl aber z. B. Cyankalium und Schwefelnatrium. Strychnin und Chinolin sind unschädlich, Chinin schwach schädlich.[3]) Aluminiumsalze wirken sogar fördernd, desgl. Phosphorsäure und ihre Salze, sowie u. a. Asparagin (Effront).[4])

Arsensaures Natrium wirkt auf Hefe sehr wenig ein, wohl aber auf andere Spaltpilze (Schaeffer und Böhm).[5])

1) A. Mayer, l. c. S. 129.

2) Gayon und Dubourg, C. R. 110. 685 (1890).

3) Litter. u. Genaueres bei A. Mayer, l. c. S. 147.

4) Effront, Bull. Soc. Chim. (3.) IX. 151 (1893).

5) Schaeffer und Boehm, Sitzb. d. Erlanger Phys. Med. Soc. N. F. III. 238 (1872).

Besonders sorgfältig ist die Frage nach der Beeinflussung der Hefe durch Gifte von Schulz[1]) und seinen Schülern untersucht worden. Sie fanden, dass kleine Dosen, z. B. von Ameisensäure etc. die Wirkung beförderten, grössere Dosen schädigten.

Für die Wirkung der Metallsalze auf Hefen nimmt Mann[2]) eine Bindung derselben in Form von Phosphaten an die Zelle an.

Kohlensäure wirkt hemmend (Foth).[3]) Schweflige Säure tötet Hefe bei starker Concentration (200 ccm Gas auf 1 l Wasser) sehr schnell (Linossier),[4]) besonders bei saurer Reaction.

Das Fluornatrium, das bekanntlich die Fäulnissbacterien in einer Concentration von ca. 1 % sicher tötet, hat auf Hefepilze einen schwächeren Einfluss, weshalb man nach dem Vorgange von Effront seine Anwendung im Brauereigewerbe empfohlen hat, um die Spaltpilze fernzuhalten.

Bei den Fluorverbindungen finden wir auch einen jener oben erwähnten Fälle, wo ein gewisses Auseinandergehen der rein vitalen von der fermentativen Energie vorzuliegen scheint. Effront[5]) fand nämlich, dass Fluornatrium und andere Fluorverbindungen in geringer Concentration die Vermehrung der Hefezelle sistiren, dabei aber die Fermentwirkung nicht nur nicht beeinträchtigen, sondern sogar erhöhen.

Auch in einer Kohlensäureatmosphäre verhält sich die Hefe nach Foth[6]) ähnlich.

Ein ähnliches Beispiel dafür, dass man unter gewissen Bedingungen die Fermentwirkung schonen kann, wenn man die Lebensthätigkeit vernichtet, liefern die Versuche von Fiechter,[7]) der fand, dass Blausäure schon in sehr geringen Mengen die Lebensthätigkeit der Hefe aufhebt, ohne sofort die Gährung zu sistiren.

Die bei den Enzymen oft aufgeworfene und nicht mit völliger Einheitlichkeit beantwortete Frage, inwieweit die Spaltproducte schädigend wirken, erledigt sich bei der alkoholischen Gährung sehr einfach damit, dass hier eins der Spaltproducte, nämlich der Alkohol, in gewissen Concentrationen ein Protoplasmagift ist und damit die Hefe und die Gährung schädigt. Bei 12 % Alkohol wird das Wachsthum der Sacharomyceten gehemmt, bei 14 % erlischt jede Energieäusserung. Mucorhefen stellen ihre Thätigkeit bereits bei 3½—4 %, Mucor

---

1) Schulz, Virch. Arch. 108. 427 (1887). Pflüg. Arch. 42. 517 (1888).
2) Mann, Ann. Inst. Past. VIII. 785 (1894).
3) Foth, Z. ges. Brauw. 1889. 182.
4) Linossier, Ann. Inst. Past. V. 171 (1891).
5) Effront, Bull. Soc. Chim. (3.) V. 148. 476. 731. VI. 786 (1891).
6) Foth, C. f. Bakt. I. 502 (1885).
7) Fiechter, Ueb. d. Wirkg. der Blausäure. Diss. Basel 1875.

stolonifer schon bei 1,3 % ein;[1]) doch giebt es auch Sacharomyceten, die gegen Alkohol sehr empfindlich sind, wie z. B. eine von Prior[2]) untersuchte Bierhefe vom Typus Saaz, und auch der alkoholbildende Pilz der Kojihefe (s. o.).

Bedeutung des Sauerstoffs und Pasteur's Theorie der Gährung: Dass die alkoholische Gährung der Zuckerarten nicht unter allen Umständen untrennbar mit dem Lebensprocess der Hefe im Zusammenhang steht, dafür liefert auch das Studium der fermentativen und vitalen Vorgänge unter dem Einfluss grösserer oder geringerer Sauerstoffzufuhr Belege. Die Behandlung dieser Frage erscheint um so wichtiger, als auf Grund dieser Beeinflussung durch den Sauerstoff die einzige wirkliche Theorie der alkoholischen Gährung von Pasteur aufgestellt und von den Anhängern der vitalistischen Anschauung vertreten wurde. Wir müssen deshalb auf diesen Punkt ausführlicher eingehen.

Zunächst können wir das eine Factum als unbestritten hinstellen, dass der Hefepilz zu seiner Fructification unbedingt des freien Sauerstoffes bedarf, wie dies von Reess[3]) mit Sicherheit nachgewiesen worden ist.

Nicht so einstimmig beantwortet ist dagegen die Frage, inwieweit die rein vegetative Energie der Hefezellen, inclusive ihrer Vermehrung durch Sprossung, und ihre fermentative Wirkung sich bei verschiedener Sauerstoffzufuhr gestaltet.

Pasteur machte die theoretisch für ihn so folgenschwere Entdeckung, dass die Hefepilze bei reichlicher Sauerstoffzufuhr eine sehr energische Vermehrung zeigten, dass dagegen ihre Gährwirkung relativ gering ist; umgekehrt entfalten sie, bei geringerer Proliferation, eine viel lebhaftere Gährthätigkeit, wenn der Sauerstoff ganz oder nahezu abgeschlossen wird. Pasteur benutzte dieses Verhalten der Hefe dazu, um aus ihm seine Theorie der Alkoholbildung zu induciren. Er sagt, dass die Alkoholgährung ein „Leben ohne Luft“ (vie sans air) sei, d. h. dass der gewissermassen in einer Zwangslage sich befindliche Pilz den ihm zur Entfaltung seiner vitalen Energie dringend nöthigen Sauerstoff dem Zucker entzieht und daraus Kohlensäure in seinem Organismus bildet, während er den nicht verwendeten Rest als Alkohol etc. secernirt. Dies die Pasteur'sche Theorie, auf deren Kritik wir später eingehen werden; zunächst sollen uns die thatsächlichen Befunde beschäftigen.

---

1) cit. n. Flügge, Microorgan. 1896. S. 229.

2) Prior, Centr. f. Bacteriol. (II.) I. 432 (1895).

3) Reess, Botan. Unters. üb. Alcoholgährungspilze, l. c. S. 15.

Pasteur hatte den Nachweis geführt, dass reichliche Lüftung die Vermehrung der Hefe begünstigt; er nahm ohne Weiteres den Sauerstoff als das dabei wirksame Agens an; doch zeigten Versuche von Neubauer[1]) und Hansen,[2]) dass auch Lüftung mit anderen Gasen und auch das Schütteln ohne Sauerstoffzuleitung ähnliche Erfolge zeitigten. Es scheint also nicht gerade der Sauerstoff als solcher zu sein, der die Vermehrung der Hefe veranlasst.

Andererseits trat aber den Pasteur'schen Versuchen Brefeld[3]) zur Seite, der die Pasteur'sche Anschauung, dass bei Sauerstoffabschluss Gährung, bei Sauerstoffzufuhr Leben und Wachsthum der Hefe gedeiht, in extremster Weise weiterführte, daraus aber theoretisch gerade eine Waffe gegen Pasteur's vitalistische Theorie zu schmieden suchte. Brefeld bemühte sich zunächst, den Nachweis zu führen, dass der Hefe für ihren Lebensprocess der freie Sauerstoff unentbehrlich ist; er versuchte zu demonstriren, dass die Hefezelle in sauerstofffreier Atmosphäre unter dem Mikroskop direct Absterbungserscheinungen erkennen lässt; er versuchte fernerhin nachzuweisen, dass die Hefezellen eine grosse Affinität zum Sauerstoff besitzen, und dass sie aus schwach sauerstoffhaltigen Medien den Sauerstoff bis auf die letzten Spuren verzehren. So lange nun Sauerstoff vorhanden ist, so lange lebt und sprosst die Hefezelle im normalen Lebensvorgang; erst mit dem Verschwinden des Sauerstoffes hört das Wachsthum völlig auf und dann erst beginnt die Gährung. Gährung und Wachsthum gehen nach Brefeld niemals miteinander; eins schliesst das andere aus. Die Gährung ist ein krankhafter, mit dem Tode der Hefe endigender Process. Insofern widerstrebt er der Anschauung Pasteur's, dass die alkoholische Gährung zwar eine den veränderten Bedingungen angepasste, aber doch in diesem Rahmen normale Lebensäusserung sei. Brefeld blieb aber den Nachweis schuldig, dass wirklich die Hefe bei der Gährung nicht wächst, und dass, wie er es verlangt, erst mit dem völligen Verschwinden des Sauerstoffes die Gährung einsetzt. Brefeld's Behauptungen wurden denn auch sehr bald von Pasteur selbst, besonders aber von Moritz[4]) und Traube[5]) energisch angefochten.

So führte Traube den Nachweis, dass bei Abschluss von

1) *Neubauer, Ann. d. Oenolog. IV. S. 68.

2) Hansen, Meddelelser fra Carlsberg Labor. cit. n. Mayer, l. c. S. 153.

3) Brefeld, Verh. Phys. Med. Soc. Würzburg. 1873. S. 163. Chem. B. VII. 281. 1066. VIII. 421 (1875). Thiel's Landw. Jahrb. III. (1876).

4) Moritz, Chem. B. VII. 156. 436 (1874).

5) Traube in verschied. Abhandl. Chem. B. VII.—XV. s. a. s. ges. Abhandl. Berlin 1899.

Sauerstoff Hefe sich auch auf den besten Nährböden nicht entwickelt, dass dagegen ausgebildete Hefe des freien Sauerstoffes entbehren kann.

Es ergab sich denn auch bald unwiderleglich, dass einerseits bei Sauerstoffabschluss Wachsthum neben Gährung, andererseits bei Anwesenheit von Sauerstoff Gährung neben Wachsthum stattfindet. Mayer[1]) bemerkt sehr einleuchtend, dass sich Brefeld's Ansichten verwirklichen, wenn man zwei Endstadien des Processes betrachtet: Einerseits ganz junge Hefe, die bei reichlicher Anwesenheit von Sauerstoff üppig wächst, ohne zu gähren; und andererseits alte, schwache Hefe, die bei Abschluss von Sauerstoff nur noch gährt, ohne weiter zu wachsen; dass dagegen für die durchschnittlichen Bedingungen beide Vorgänge parallel gehen. Man kann also mit Recht die Sache so auffassen, dass zwar die Sauerstoffzufuhr die Gährkraft, die Fermentproduction der einzelnen Hefezelle schwächt, dagegen nicht aufhebt; in der Praxis gestaltet sich die Sache so, dass die „gelüftete" Hefe trotz der geringeren Energie der Einzelzelle doch in toto mehr Alkohol producirt, da dieser Mangel durch eine gesteigerte Neuproduction von Zellen übercompensirt wird (Pedersen).[2])

Jedoch ist nicht einmal die Behauptung, dass der Sauerstoff die Gährthätigkeit schwächt, ohne Widerspruch geblieben. Nägeli[3]) glaubte sogar, eine directe Förderung durch Sauerstoff erwiesen zu haben. Allerdings ist diese Ansicht Nägeli's bei einer erneuten Aufrollung der Frage, besonders von A. Mayer[4]) und Giltay und Aberson[5]) widerlegt worden. Die letzteren Autoren wiesen in sorgfältigen Versuchen nach, dass bei lebhaftem Wachsthum unter reichlicher Durchlüftung nur 75 % des Zuckers vorschriftsmässig fermentirt wurden, während bei Abschluss von Sauerstoff bis an 90 % der alkoholischen Gährung unterlagen. Jedoch nehmen wieder Andere, so z. B. A. Brown[6]) bei gleichbleibender Anzahl der Hefezellen eine sehr kleine Beförderung der Alkoholproduction bei Sauerstoffzufuhr an. Nach Buchner und Rapp[7]) ist er unter normalen Verhältnissen

1) A. Mayer, l. c. S. 155.

2) Pedersen, Meddelelser fra Carlsberg Labor. IV. 1878. cit. n. Mayer, l. c. S. 156.

3) Nägeli, Theorie der Gährung. München 1879.

4) A. Mayer, Landwirthsch. Versuchsstat. **25.** 301.

5) Giltay und Aberson, Pringsheim's Jahrb. f. wissensch. Botanik. **26.** 543 (1894).

6) A. Brown, Journ. Chem. Soc. **61.** 369 (1892).

7) Buchner und Rapp, Z. f. Biol. **37.** 82 (1899). (ausführliche Litteratur).

fast gleichgiltig, aber eher schädlich als nützlich. Wir müssen also nach alledem als erwiesen ansehen, dass der freie Sauerstoff die Hefevegetation fördert, die Gährung nur in sehr geringem Maasse beeinträchtigt. Besonders prägnant sind die Versuche von Buchner und Rapp,[1]) die selbst bei Züchtung der Hefe auf der Luft preisgegebenen Zuckergelatineplatten noch immer kräftige Gährung beobachten konnten, so dass noch ca. $^6/_7$ des Zuckers wirklich vergohren wurden, nur $^1/_7$ im Stoffwechsel der Zellen verbrannt. Wir müssen nun zusehen, in welchem Sinne sich diese Thatsachen theoretisch in unsere Anschauungen von dem Wesen der Fermentprocesse im Allgemeinen und der alkoholischen Gährung im Besonderen einfügen lassen.

Pasteur's radicale Anschauung und seine daraus folgende Theorie der Alkoholgährung ist nach dem oben Gesagten nicht mehr haltbar. Wenn die Hefe auch bei Sauerstoffanwesenheit gährt, so kann man füglich nicht mehr davon sprechen, dass es die Abwesenheit von Sauerstoff ist, welche sie zu einer intensiven Umänderung ihres Stoffwechsels im Sinne einer alkoholischen Fermentation des Zuckers zwingt. Alle Versuche, Pasteur's Anschauung und Theorie bedingungsweise und eingeschränkt aufrecht zu erhalten, müssen vergeblich sein. Er selbst hat mit aller Entschiedenheit den Nachdruck auf diesen einen Punkt gelegt. Entweder ist die alkoholische Fermentation „une vie sans air“, oder sie ist es nicht; Compromisse sind da nicht zu schliessen. Nun, die experimentellen Thatsachen sind gegen Pasteur; und damit ist seine Theorie, die einzige Theorie der vitalistischen Anschauung, gestürzt, und was übrig bleibt, ist eben nur noch die Unterordnung der geformten Fermente unter den Lebensprocess, die gleichbedeutend ist mit dem Verzicht auf jede dynamische Erklärung.

Der Sturz der Pasteur'schen Theorie ist die erste wichtigste Folge unserer besseren Einsicht in die Bedeutung des Sauerstoffes für die Hefepilze.

Was aber lehren uns diese Thatsachen für unsere energetische Auffassung der Fermentvorgänge?

Sie zeigen uns mit grosser Deutlichkeit, dass es ungemein wichtige Factoren giebt, die den Lebensvorgang der Hefe in anderem Sinne beeinflussen als die Fermentaction. Der freie Sauerstoff erhöht die vitalen Vorgänge der Pilze, erniedrigt ihre Fermentproduction.

---

1) Buchner und Rapp, Z. f. Biol. 37. 82 (1899).

Wir nehmen dabei an, dass wirklich die fermentative Kraft an sich herabgesetzt ist, und nicht blos dadurch die relative Verminderung der Alkoholproduction herbeigeführt wird, dass die lebhaft atmende Hefe einen relativ grösseren Theil des Zuckers direct verbraucht und verbrennt. Einen directen Beweis dieser sehr wichtigen Annahme, der auf einer parallel gehenden Messung nicht nur des Alkohols, sondern auch der etwa ausser im typischen Gährprocess noch durch Athmung abgesonderten Kohlensäure beruhen müsste, haben wir indessen vergeblich gesucht. A. Mayer[1]) giebt nur ganz kurz an, dass bei lebhaft wachsender Hefe ein Theil des Mehrverbrauches an Zucker auch „die Folge einer directen Zuckeroxydation im Sinne der gewöhnlichen Athmung“ ist, ohne aber auf die grundlegende Frage nach dem Verhältniss Alkohol zu Kohlensäure unter diesen verschiedenen Bedingungen einzugehen. Wir wollen indessen, da eine Entscheidung ohne experimentelle Untersuchung nicht möglich ist, annehmen, dass wirklich die fermentative Kraft an sich herabgesetzt ist, wie dies ja a priori wegen der grossen Differenzen anzunehmen ist. Bei sehr reichlicher Sauerstoffzufuhr tritt allerdings nach Buchner und Rapp[2]) eine merkbare directe Oxydation des Zuckers ein.

Wenn wir nicht mehr mit Pasteur annehmen dürfen, dass durch totalen Sauerstoffmangel der ganze Lebensvorgang der Pilze so gewaltig umgewälzt wird, dass sie nunmehr in völlig abgeändertem Stoffwechsel dem Zucker den zu ihrem Leben nöthigen Sauerstoff entnehmen, so wird die Vorstellung, dass durch Schwankungen im Sauerstoffgehalt zwar der sonstige Stoffwechsel intensivirt, aber gerade der Alkoholstoffwechsel, um uns auch dieses kurzen Ausdruckes zu bedienen, in seinem Umfange reducirt wird, zu einer uns nicht im geringsten theoretisch weiterführenden Annahme, der gegenüber schwere Bedenken nicht zu unterdrücken sind. Wir wissen doch durch E. Buchner, dass die Hefezelle ein Enzym producirt; um wie viel einfacher und theoretisch bedeutsamer lässt sich die Einwirkung des Sauerstoffes erklären, wenn wir annehmen, dass der freie Sauerstoff zwar, wie bei allen Lebewesen, den ganzen Lebensvorgang als solchen lebhafter gestaltet, dass er dagegen die Fermentproduction einschränkt.

Wir kommen also auch durch diese Ueberlegung wiederum zu dem schon so oft gezogenen Schlusse, dass Lebensvorgänge und Fermentprocesse zwar in dem Sinne zusammengehören, dass die Fermentwirkungen ein sehr wichtiges Werkzeug für die Entfaltung der Lebenserscheinungen sind, dass wir aber kein Recht haben, ohne Weiteres beide zu identificiren. Sie sind theoretisch von einander unabhängige, parallel laufende Processe.

Wenn wir diese Anschauung vertreten wollen, so müssen wir aber

1) A. Mayer, l. c. S. 159.
2) Buchner und Rapp, l. c.

auch der Frage näher treten, welche physiologische Bedeutung dies alkoholisirende Ferment überhaupt für die Hefezelle hat.

Die gewöhnliche Function der ungeformten Fermente, aus unbrauchbaren Nährstoffen durch Spaltung assimilirbare, lösliche Producte zu schaffen, hat das alkoholisirende Ferment der Hefe nicht. In diesem Sinne hat Nägeli[1]) mit vollem Recht den Unterschied zwischen der Alkoholgährung und der Wirkung der Enzyme im engeren Sinne betont, wenn ich auch die weittragende theoretische Bedeutung für das Wesen der Fermentprocesse überhaupt, die er dieser Differenz beimisst, ablehnen muss. Es liegt hier ein teleologisch-biologischer Unterschied vor, der aber bei einer rein theoretischen Betrachtung der Fermentprocesse als energetische Einheit ausser Betracht bleibt. Indessen wird dadurch seine Wichtigkeit für die Beurtheilung der physiologischen Function der Fermente nicht herabgesetzt. Das Alkoholferment der Hefe ist kein Ernährungsenzym im oben angegebenen Sinne; denn weder der Alkohol, noch die Kohlensäure dienen der Hefe als Nährstoff; der erstere wird nicht in Anspruch genommen, da der Zucker eine viel bessere Nährquelle darstellt; die Kohlensäure kann die Hefezelle nicht assimiliren, da sie kein Chlorophyll besitzt. Welches ist also die physiologische Function des Fermentes der Hefe? Wir können kaum anders annehmen, als dass das Ferment die Function hat, der Hefezelle durch die von ihm eingeleitete exothermale Reaction Energie zuzuführen.

Wir wissen aus zahlreichen Beispielen, dass alle Fermente im Wesentlichen nur dann producirt werden, wenn der Organismus sie braucht.

Solange z. B. Schimmelpilze genügend Traubenzucker in ihrem Nährmedium vorfinden, bilden sie keine Enzyme; und so lange der ruhende Embryo des Pflanzensamens nicht das Bedürfniss hat, die ihm mitgegebenen Reservestoffe anzugreifen, ist eine Enzymproduction nicht vorhanden.

Mit Hilfe dieser Thatsachen müssen wir versuchen, auch die Wirkung des Sauerstoffes auf die Fermentproduction zu erklären. Es giebt der Hefe sehr ähnliche Sacharomyceten, wie den S. Mycoderma, der ausschliesslich an der Luft lebt, niemals Fermente producirt und bei Luftabschluss zu Grunde gehen muss. Er hat kein Mittel, um bei fehlendem Sauerstoff seine Lebensenergie zu erhalten.

Dieses Mittel steht anderen Microorganismen zu Gebote.[2]) Die

---

1) Nägeli, Theorie der Gährung. München 1879 (s. S. 9).

2) s. über die Frage der Beziehung zwischen Anaërobiose und Fermentwirkung im Allg. Liborius, Z. f. Hyg. I. 115 (1886/87).

Mucorarten leben für gewöhnlich auch aërob, ohne Alkoholferment zu produciren; wenn man sie aber unter Luftabschluss weiter züchtet, so erlangen sie die Fähigkeit, ein Ferment zu produciren, das ihnen durch seine exothermalen Processe die Energie liefert, die sie nicht wie die Chlorophyllpflanze aus der zugeführten Sonnenenergie entnehmen und nicht, wie unter normalen Verhältnissen, durch Athmung in exothermalem Vorgang selbst bilden können, so lange ihnen der dazu nöthige Sauerstoff fehlt. Für sie bleibt aber die Fermentbildung ein Nothbehelf, den sie sofort wieder fallen lassen, wenn sie in normale Lebensbedingungen (Sauerstoffzufuhr) zurückgelangen.

An diese Fähigkeit, dem rein vitalen Oxydationsvorgang durch Fermentproduction eine Unterstützung zur Seite zu stellen, sind nun die echten Hefepilze in so hohem Maasse angepasst, dass sie ihre Anwendung selbst dort herbeiziehen, wo ihnen bei Anwesenheit von freiem Sauerstoff die Möglichkeit geboten wäre, ohne dieses Hilfsmittel auszukommen, und dass es nicht möglich ist, sie wieder zum aëroben, fermentlosen Leben zurückzuführen; andererseits sind sie durch seine ausgiebige Anwendung in der Lage, ihre gesammte vitale Energie mit seiner Hilfe auch dann in vollem Maasse lange Zeit hindurch zu bestreiten, wenn ihnen durch völligen Abschluss des Sauerstoffes jede andere Energiequelle verschlossen wird. In der quantitativen Ausnutzbarkeit dieses Hilfsmittels unterscheiden sie sich von den Mucorarten, die, weil normalerweise aërob und fermentlos lebend, weniger reichlich damit versehen sind, so dass bei ihnen im anaëroben Leben die vegetativen Fähigkeiten mit der Fermentproduction schneller verschwinden, als bei den Hefepilzen; freilich ist auch bei diesen, wie Brefeld gezeigt hat, die Fähigkeit zum anaëroben, nur mit Hilfe der Fermentproduction ermöglichten Leben nicht ohne Grenzen: schliesslich stirbt auch die Hefezelle bei Sauerstoffabschluss ab, wenn die Fermentwirkung erlischt.

Andererseits muss die Hefe bei mangelndem Substrat für die Fermentation einen Theil ihrer eigenen Substanz fermentiren, um dem Rest die Lebensenergie zu liefern, wie dies bei der oben erwähnten „Selbstgährung“ der Hefe geschieht.

Wir kommen also auf diesem Wege, von ganz anderen theoretischen Grundlagen ausgehend, zu ähnlichen physiologischen Erwägungen, wie sie Pasteur angestellt hat. Die Fermentproduction ist der physiologische Ersatz für die freie Athmung zur Erzeugung der nothwendigen Lebensenergie, aber nicht ist der Stoffwechsel bei Sauerstoffabschluss die Fermentation selbst. Diese Anschauung ist, abgesehen von unserer Gesammtauffassung der Fermentprocesse überhaupt, durch E. Buchner's Befunde hinfällig geworden.

In ähnlicher Weise, wie für die Hefezelle, können wir auch für die Alkoholbildung, die bei Sauerstoffabschluss in den Organen der höheren Pflanzen und vermuthlich auch der Thiere (s. o.) eintritt, eine dynamische Erklärung suchen. Die Production von Fermenten, die exothermale Processe auslösen, scheint ein überall zu findendes Hilfsmittel zu sein, um die nöthige Lebensenergie auch bei Abschluss des Sauerstoffes, wenn auch nur eine Zeit lang, zu erhalten. Vielleicht ist auch die Milchsäurebildung in thierischen Organen, wie sie bei starkem Sauerstoffverbrauch, z. B. im arbeitenden Muskel und bei der Phosphorvergiftung auftritt, in ähnlicher Weise auszulegen.

Dreiundzwanzigstes Capitel.

Die Oxydasen.

Nach Untersuchungen, die zum grossen Theil in die letzten Jahre fallen, spielen sauerstoffübertragende, oxydative Fermente, Oxydasen eine grosse Rolle in der Natur. Sie scheinen ähnlich wie die hydrolytischen Fermente, eine wichtige Function im Stoffwechsel der Lebewesen zu erfüllen.

Man findet sie weit verbreitet sowohl bei pflanzlichen als bei thierischen Organismen.

Die Oxydasen: Wir wollen uns zunächst mit den oxydativen Fermenten der thierischen Gewebe beschäftigen.

Das Problem der Oxydirung verbrennlicher Stoffe im thierischen Organismus musste, als mit dem der Ernährung im engsten Zusammenhang stehend, schon frühzeitig die Physiologen beschäftigen. Und bald erkannte man das erstaunliche Phänomen, dass der thierische Organismus, der so ausserordentlich schwer oxydirbare Stoffe, wie die Eiweisskörper, ohne hohe Temperaturen und energische chemische Agentien abzubauen im Stande ist, so leicht oxydirbare Substanzen, wie z. B. die Oxalsäure,[1] unverändert durch seine Gewebe passiren lässt. Und als man dann speciell den Abbau der Nahrungsmittel weniger auf einen vitalen Abbauprocess, als eine Wirkung der ungeformten Fermente des Darmtractus zurückführen lernte, da blieben noch Beispiele genug, die zeigten, dass dem lebenden Organismus die Eigenschaft zukam, nicht blos leichtverbrennliche, autoxydable Stoffe zu oxydiren, sondern auch solche, die ausserhalb des Organismus sehr beständig gegen oxydirende Mittel, desoxydabel (Traube) sind. Benzol verlässt den Körper als Phenol, Toluol als Benzoësäure resp. Hippursäure[2]) etc.

---

1) Pohl, A. f. exp. Path. 37. 413. s. a. Hahn, Berl. klin. W. 1897. 499.

2) Naunyn und Schultzen, Dubois A. 1867. 349. Baumann und Herter, Z. ph. Ch. I. 265 (1877).

Man suchte natürlich nach Erklärungen für diese Thatsachen. Hoppe-Seyler[1]) gründete seine Anschauung darauf, dass in den Geweben starke Reductionsprocesse sich abspielen, die man nach dem Vorgang von Ehrlich[2]) durch Anwendung von Alizarinblau und andere Farbstoffe[3]) nachweisen kann.[4]) Hoppe-Seyler stützte sich nun darauf, dass bei derartigen Reductionsprocessen eine Activirung des molecularen Sauerstoffs O_2 zu O eintreten kann, wie z. B. Palladiumblech, das mit Wasserstoff gesättigt ist, den molecularen Sauerstoff zerlegt, so dass das Palladium z. B. Indigo oxydiren kann. Aehnliche Activirungsvorgänge sollten im Organismus vor sich gehen unter dem Einfluss der Reduction. Es sollten die leichtoxydablen Stoffe als Sauerstoffüberträger wirken.

Gegen diese Ansicht von Hoppe-Seyler wandte sich besonders Traube[5]) in mehreren Arbeiten. Er nahm statt dessen eine „katalytische“ Oxydation, eine „Erregung“ des Sauerstoffes an, wie sie bei der leichten Sauerstoffabgabe des Wasserstoffsuperoxydes in Berührung mit vielen chemischen Stoffen angenommen wird. Er zeigte, dass bei der langsamen Oxydation der „autoxydablen“, d. h. leicht oxydirbaren Stoffe, keine Activirung molecularen Sauerstoffes eintritt, und dass schliesslich freie Sauerstoffatome nicht die Fähigkeit der Oxydation „desoxydabler“ Stoffe in dem Grade besitzen, wie Hoppe-Seyler sie ihnen zuschreibt.

In der That zeigten Schönbein[6]) und A. Schmidt,[7]) dass thierische und pflanzliche Gewebe solche katalytisch wirkenden Stoffe besitzen, die aus Wasserstoffsuperoxyd activen Sauerstoff frei machen, der

---

1) Hoppe-Seyler, Chem. B. XVI. 117. 1917 (1883).

2) Ehrlich, Das Sauerstoffbedürfniss des Organismus. Berlin 1885.

3) s. a. Harris, Journal of anat. and physiol. 31. 381.

4) Natürlich fängt man jetzt auch diese Processe auf selbstständige „Enzyme“ zurückzuführen an, so dass wir ausser den Oxydasen auch bald mit „Reducasen“ beschenkt sein werden, vgl. Abelous und Gérard, C. R. **129**. S. 164 (1899). Dass ein derartiges „reducirendes Ferment“ einen endothermalen, mit Verbrauch von Energie einhergehenden Vorgang auslösen müsste, also der Definition des Begriffes Ferment direct ins Gesicht schlägt, macht Herrn Abelous keine Sorge. Dahin gehört auch das „Philothion“, das „reducirende“ „hydrogenisirende“ Ferment von Rey-Pailhade (C. R. soc. biol. 1894. 1895. 1897).

5) Traube, Chem. Ber. XV. 659. 2421. 2434. XVI. 123. 1201. s. a. d. ges. Abhandl. Berlin 1899.

6) Schönbein, Z. f. Biol. I—IV. s. die Zusammenfassung der Schönbein'schen Arbeiten von Schaer, Z. f. Biol. **37**. (1899).

7) A. Schmidt, u. a. Pflüg. A. VI. 508. s. zu dieser Frage auch Pflüger, sein Arch. X. S. 252 ff.

z. B. Guajactinctur bläut, was molecularer Sauerstoff nicht thut. Diese katalytische Wirkung nehmen wir nun aber auch für die Enzyme an, und in der That hat auch schon Traube für diesen Fall den Begriff des Oxydationsfermentes geschaffen.

Es scheinen hier nun in der That enzymartige Substanzen wirksam zu sein. Mit der Reduction haben diese Oxydationsprocesse nicht die enge Verbindung, die Hoppe-Seyler ihnen zuschreibt. Denn nach den Befunden von Spitzer[1]) wirken die glycolytischen Extracte nicht reducirend; auch nimmt die Reductionskraft der Gewebe nach dem Tode noch zu, wo die oxydative bald verschwindet; ferner aber bleibt die Reductionskraft auch nach dem Kochen erhalten, während das oxydirende Ferment dadurch sofort vernichtet wird.

Die Methoden, mit deren Hilfe man diese Fermente qualitativ und quantitativ untersuchen kann, sind folgende:

Nachweisen kann man die oxydative Wirkung besonders mit Hilfe einer Bildung von Indophenol. Wenn man Organbreie[2]) oder Extracte[3]) mit einer alkalischen Lösung eines Gemenges von α-Naphthol und p-Phenylendiamin (resp. Di- oder Tetramethylparaphenylendiamin)[4]) zusammenbringt, so tritt unter Sauerstoffaufnahme eine Bläuung unter Bildung von Indophenol ein, die zuerst von Ehrlich[5]) beobachtet wurde. Röhmann und Spitzer fanden dann, dass die Organbreie auch ähnliche synthetische Oxydationen, bei denen zwei Atome Sauerstoff nöthig sind, vollbringen, z. B. die von Indaminen und Eurhodinen.

Andere Farbenreactionen sind die Bläuung von Guajactinctur, die Dunkelbraunfärbung von p-Phenylendiamin, die Granatrothfärbung von Guajacol (Bourquelot).[6])

Schaer[7]) nimmt als Medium der Guajacbläuung die Guajaconsäure an, die mit Ozon eine blaue Verbindung giebt.

Eine andere Methode, die quantitative Wirksamkeit der Enzyme zu messen, rührt von Schmiedeberg[8]) und seinen Schülern her. Sie lassen die zu untersuchenden Substanzen auf Salicylaldehyd resp.

---

1) Spitzer, Berl. klin. Woch. 1894. S. 949.

2) Röhmann und Spitzer, Chem. B. 28. 567 (1895). Spitzer, Pflüg. A. 60. 303.

3) Pohl, A. f. exp. Path. 38. 65.

4) Wurster, Chem. Ber. XIX. 3195 (1886).

5) Ehrlich, l. c.

6) Bourquelot, C. R. soc. biol. 46. S. 896 (1896).

7) Schaer, Apotheker-Zeitg. 1894. S. 749.

8) Schmiedeberg, A. f. exp. Pathol. XIV. 288. 379. Jacquet, ibid. 9. 386.

Benzylalkohol einwirken und bestimmen die gebildeten Mengen von Salicylsäure (colorimetrisch mit Eisenchlorid), resp. Benzoësäure. Pohl[1]) verwendete auch Formaldehyd, der zu Ameisensäure, Spitzer[2]) arsenige Säure, die zu Arsensäure oxydirt wird.

Am besten scheint sich Salicylaldehyd zu eignen.

Die vorhandenen Enzyme scheinen verschiedener Natur zu sein. Zunächst muss man sich darüber klar werden, was von allen diesen Reactionen wirklich auf Enzymwirkungen zurückgeführt werden kann.

Bourquelot,[3]) dem wir auch viel experimentelles Material in dieser Frage verdanken, nimmt für alle diese katalytischen Oxydationen die Uebertragung von Sauerstoff an. Alle diese Processe können also nur bei Gegenwart von freiem Sauerstoff stattfinden.

Er theilt diese oxydirenden Stoffe in vier Gruppen:

Die erste nimmt das Ozon allein ein, das an sich die Fähigkeit dieser Sauerstoffübertragung besitzt, wie es ja auch an sich Guajactinctur bläut.

Die zweite Gruppe sind die „Ozoniden“ oder Ozonträger Schönbein's, wie z. B. das Chinon, das in wässeriger Lösung durch das in ihr wirksame Ozon eine Zeit lang alle diese Farbenreactionen giebt, diese oxydirende Kraft indessen bei der Berührung mit vielen organischen Stoffen, wie z. B. Blut, Milch etc. sofort verliert, ebenso beim Erhitzen und beim Stehenlassen.

Die dritte Gruppe Bourquelot's nun sind die echten „Oxydasen“, die sich von der zweiten Gruppe dadurch unterscheiden, dass ihre Wirkung nicht an eine bestimmte Quantität des oxydirenden Agens, wie Ozon gebunden ist, sondern dass sie als echte Fermente so lange Sauerstoff übertragen, bis ihre Thätigkeit durch die für Fermente vernichtenden Agentien, besonders Kochen, aufgehoben wird.

Schliesslich unterscheidet er als vierte Gruppe solche Stoffe, die in Gegenwart von Wasserstoffsuperoxyd, und nur in dieser, oxydirende Wirkungen erzielen, indem sie das H_2O_2 als Quelle für den zu übertragenden Sauerstoff benutzen. Solche Substanzen finden sich auch vielfach in pflanzlichen und thierischen Säften. Abelous und Biarnès[4]) bezeichnen sie als „indirecte Oxydasen“. Auch ihre Thätigkeit wird durch Kochen zerstört. Wasserstoffsuperoxyd zersetzen zwar

1) Pohl, ibid. 38. 65.
2) Spitzer, Pflüg. Arch. 71. 596.
3) Bourquelot, C. R. soc. biol. 1897. 402.
4) Abelous und Biarnès, C. R. soc. biol. 1898. 495.

die echten Oxydasen auch, wie alle Fermente, aber ihre Oxydationswirkung ist nicht daran gebunden. Im übrigen ist auch hier wahrscheinlich das eigentliche Ferment verschieden von dem H_2O_2 zersetzenden Princip (Bourquelot).[1])

Wenn man also eine Oxydation solcher Art auf eine echte „Oxydase" zurückführen will, so hat man zunächst auszuschliessen, dass es sich um eine Ozonwirkung handeln könne; ferner aber muss das Substrat frei von Wasserstoffsuperoxyd sein, mit dessen Hilfe ja auch indirecte Oxydasen wirksam sein können.

In diesem Sinne sind nun noch nicht alle die beschriebenen Oxydationsvorgänge in thierischen und pflanzlichen Geweben mit Sicherheit auf echte Oxydasen zurückgeführt; doch ist die ganze Frage theoretisch noch so wenig spruchreif, dass wir uns zunächst begnügen wollen, einen Ueberblick über das gefundene experimentelle Material zu geben:

Von den thierischen Oxydasen ist die den Salicylaldehyd oxydirende, die Salicylase (Abelous) am eingehendsten untersucht.

Im lebenden Organ ist das Enzym an die Zellen gebunden; es kann deshalb im überlebenden Organ und in frischen Organbreien beobachtet werden (Jacquet).[2]) Dagegen sind Glycerin- oder Chloroformwasserextracte der lebenden Organe unwirksam, wohl aber die der abgestorbenen (Pohl).[3])

Es giebt keine Indophenolreaction.

Die oxydirende Kraft der überlebenden Organe wird weder durch Gifte, noch durch Erfrieren gehindert (Jacquet). Nur Blausäure und Hydroxylamin wirken hemmend (Röhmann und Spitzer).[4]) 80 %iger Alkohol schadet dem Ferment nichts, es kann sowohl das Organ mit Alkohol behandelt werden, als auch das Ferment durch Alkohol gefällt und in trockenem Zustande aufbewahrt werden; es bleibt wirksam. 96 %iger dagegen scheint es langsam zu vernichten (Schwiening)[5]), ebenso Alkalien und Säuren (Spitzer). In Wasser ist es leicht löslich. Bei 60° wirkt es am besten, bei 100° wird es sehr schnell vernichtet (Abelous und Biarnès).[6]) Abelous und Biarnès haben ferner bei der Wirkung des Fermentes den Verbrauch

1) Bourquelot, C. R. soc. biol. 1898. 381. vgl. Jacobson, Z. phys. Ch. XVI. 340.

2) Jacquet, A. f. exp. Pathol. 29. 386.

3) Pohl, A. f. exp. Path. 38. 65.

4) Röhmann und Spitzer, Chem. B. 28. 567 (1895).

5) Schwiening, V. A. 136. 478.

6) Abelous und Biarnès, Arch. d. physiol. 1895. S. 195. 239. C. r. soc. biol. 48. 97. 262.

von Sauerstoff und die Abspaltung von Kohlensäure experimentell erwiesen.

Ueber die Wirksamkeit der einzelnen Organe ist Folgendes angegeben: Das Blut führt keine Oxydase nach Jacquet,[1]) was indessen von Salkowski[2]) und Abelous und Biarnès[3]) bestritten wird. Nach den letzteren wirken Muskel, Nerven und Pancreas fast gar nicht, Leber, Lunge, Milz sehr energisch. Nach Abelous sollen die Organe junger Thiere mehr Ferment enthalten. Jacoby[4]) hat die Salicylase nach verschiedenen Richtungen hin untersucht. Er fand sie unwirksam auf Natriumthiosulfat, Essigsäure und Stearinsäure. Letzteren Versuch hatte er mit Rücksicht auf die mögliche Bildung von Zucker aus Fett durch Oxydation angestellt, die im Körper stattfinden soll.

Chloroform erwies sich in kleinen Dosen etwas befördernd, in grosser Concentration hemmend. Exquisit schädlich dagegen zeigten sich Soda, die in 1 %iger Lösung die Fermentwirkung aufhebt, und noch mehr Natronlauge.

Medwedew[5]) hält sich für berechtigt, die Wirkung des Fermentes bereits in mathematische Formeln zu bringen. Er behauptet nämlich, dass „die Menge der in 1 Volumeinheit gebildeten Salicylsäure proportional ist dem Quadrat der Concentration des Oxydationsfermentes und umgekehrt proportional der Quadratwurzel aus der Concentration des Salicylaldehyds." Nach meiner Meinung ist es nicht schwer, solche Speculationen richtig einzuschätzen. Sie gehen von zu unsicheren Prämissen aus, und die Fermentwirkungen sind viel zu sehr uncontrollirbaren Einflüssen ausgesetzt, als dass man diese Verhältnisse schon streng zahlenmässig fassen könnte. Vor allem der Begriff der „Concentration" der Fermente ist völlig vage. Viel eher muss natürlich die Concentration des Mediums von Einfluss sein.

Ausser diesem Salicylaldehyd oxydirenden Ferment kommen noch andere im thierischen Körper vor.

Man kann nach den bis jetzt vorliegenden Ergebnissen ungefähr folgende Enzyme unterscheiden:

I. Die eben besprochene Salicylase, die Salicylaldehyd zu Salicylsäure oxydirt. Mit ihr identisch ist wohl das den Benzylalkohol, den Formaldehyd und die arsenige Säure oxydirende Agens.

1) Jacquet, A. exp. Path. 29. 386.
2) Salkowski, Z. phys. Ch. VII. Centralbl. med. Wiss. 1894. S. 913. Virch. Arch. 147. 1.
3) Abelous und Biarnès, Arch. d. physiol. 1895. S. 195. 239. C. r. soc. biol. 48. 97. 262 (1896).
4) Jacoby, Virch. A. 157. 235 (1899).
5) Medwedew, Pflüg. Arch. 65. 249 (1897).

Zu derselben Gruppe gehören wahrscheinlich die oxydirenden Wirkungen, welche Spitzer[1]) auf Nucleoproteïde zurückführt.

II. Das nur in der Leber und Milz, beziehungsweise deren Extracten vorhandene Agens, das specifisch auf Purinderivate wirkt. Spitzer[2]) gelang es, mit Hilfe dieser Extracte Xanthin (Oxypurin) und Hypoxanthin (Dioxypurin) bei 24stündigem Digeriren unter Ausschluss von Fäulniss fast quantitativ in Harnsäure überzuführen, die ein Trioxypurin ist. Adenin und Guanin wurden nur theilweise oxydirt.

III. Die dritte Hauptgruppe stellen die Oxydasen dar, die Guajactinctur bläuen, dagegen auf Salicylaldehyd ohne Einwirkung sind (Abelous und Biarnès).[3])

Sie nähern sich den später zu besprechenden pflanzlichen Oxydasen.

Ihr Typus ist die von Abelous und Biarnès[3]) sogenannte Globulin-Oxydase, die in Wasser unlöslich ist. Sie fanden sie im Blut und in frischen Lösungen von Fibrin in neutralen Salzen, sowie im Rückstand einer oberflächlichen Trypsin- resp. Papaïnverdauung, während das Filtrat sich unwirksam erwies, und in verschiedenen Organen. Sie halten sie für ein mit einem Globulin fest verbundenes Enzym, ähnlich wie Traube's[4]) Oxydationsferment mit dem Myosin. Nach Portier[5]) hängt sie indessen nicht mit dem Fibrin zusammen, sondern entstammt den Leucocyten.

Ebenfalls guajacbläuende Oxydasen in Thieren fand Giard[6]) in zwei Ascidien, Piéri und Portier[7]) im Blut, den Fühlern und Kiemen von Muscheln (Artemis exoleta und Ostrea edulis [Auster]), Abelous und Biarnès[8]) und Hugounencq und Paviot[9]) in Krebsen, Biedermann[10]) im Darmsaft des Mehlwurms (Tenebrio molitor).

Carnot[11]) fand ein solches im Speichel aller Menschen und z. B.

---

1) Spitzer, Pflüg. A. **67**. 615.

2) Spitzer, Pflüg. A. **76**. 192 (1899).

3) Abelous und Biarnès, C. R. soc. biol. **1897**. 285. 493. 559. 576. **1898**. 495. Arch. d. physiol. **1898**. 664.

4) Traube, Chem. B. XV. 659 (1882).

5) Portier, C. R. soc. biol. **50**. 452 (1898).

6) Giard, C. R. soc. biol. **48**. 483 (1896).

7) Piéri und Portier, C. R. **123**. 1314. Arch. d. phys. **1897**. 61.

8) Abelous und Biarnès, C. R. soc. biol. **1897**. 175. 249.

9) Hugounencq und Paviot, C. R. soc. biol. **48** (1896).

10) Biedermann, Pflüg. Arch. **72**. 156 (1898).

11) Carnot, C. R. soc. biol. **48**. 552 (1896). s. a. Dupouy, Journ. Pharm. Chim. (6.) VIII. 551. Maly's Jb. 1899. 729.

des Hundes, desgl. im Nasensecret, Eiter, und Thränenflüssigkeit. Er vermisste es in Harn, Galle und Darmsäften, fand es spurenweise in der Milch.

Unklar ist die Stellung der vielen oxydativen Wirkungen, welche sich entweder auf künstlich zugesetzte Farbstoffe (p-Phenylendiamin, für sich oder mit α-Naphthol etc.) oder auf natürliche chromogene Stoffe äussern, die ferner die Phenole und das Tyrosin betreffen. Die Tyrosinase, die uns bei den pflanzlichen Oxydasen näher beschäftigen wird, resp. ein ihr ähnliches Enzym fand im Thierreich nur Biedermann[1]) im Darmsaft von Tenebrio molitor. Ein Ferment, das ein natürlich vorkommendes Chromogen färbt, fand Phisalix[2]) in der Froschhaut.

Sie scheinen sich indessen an die Guajac bläuenden Oxydasen anzuschliessen, da die meisten dieser Enzyme auch Guajac bläuen; und andererseits Carnot (l. c.) bei seinen Enzymbefunden auch die Violettfärbung von p-Phenylendiamin nachweisen konnte. Indessen beobachtete er auch die Oxydation von Hydrochinon, die eine Function der Bertrandschen Laccase (s. u.) sein soll.

Die Zerstörung von Fetten und auch von freier Palmitinsäure durch ein Gemisch von Blut und Leberextract ist von Weiss[3]) constatirt, von Blumenthal[4]) aber bestritten worden. Es soll dabei Zucker entstehen, was für die Anhänger der Anschauung, dass ein Theil des Diabeteszuckers aus Fetten entsteht, von grosser Bedeutung wäre. Das Verschwinden der Fette in der Blutbahn ist von Cohnstein und Michaelis[5]) genau untersucht worden.

Indirecte Oxydasen, d. h. solche, die nur bei Gegenwart von Wasserstoffsuperoxyd oxydiren, giebt es ebenfalls weit verbreitet, z. B. im Serum, das keine echte Oxydase enthält, in der Milch etc. (s. b. Bourquelot).[6]) Man muss dabei bedenken, dass alte Guajactinctur häufig H_2O_2 enthält, dann also echte Oxydasen vortäuschen kann. Man muss daher stets frische Lösungen verwenden. Abelous[7]) fand indirecte Oxydasen in verschiedenen Geweben, Lépinois[8]) u. A. im Leberextract.

Im Eiter fand Linossier[9]) eine solche Oxydase, die Guajactinctur bläut. Auf die Thatsache, dass Eiter Guajactinctur bläut, hat zuerst Klebs[10]) hingewiesen.

---

1) Biedermann, Pflüg. A. 72. 152 (1898).
2) Phisalix, C. R. soc. biol. 50. 793 (1898).
3) Weiss, Z. phys. Ch. 24. 542.
4) Blumenthal, Z. f. physik. u. diät. Therapie. 1898. 250.
5) Cohnstein und Michaelis, Pflüg. Arch. 65. 473. 69. 76. Zusammenfass. i. Medic. Woche. 1900. No. 15.
6) Bourquelot, C. R. soc. biol. 1898. 402.
7) Abelous, C. R. soc. biol. 1899. 328.
8) Lépinois, C. R. soc. biol. 1899. 428.
9) Linossier, C. R. soc. biol. 1898. 373.
10) Klebs dort citirt.

Chloroform, Blausäure etc. störten die Fermentwirkung nicht; ebenso erwies sich der Chloroformwasserextract des Alkoholpräcipitates als wirksam.

Ein Wort müssen wir noch den Nucleoproteïden Spitzer's (s. o.) widmen. Spitzer schreibt den Nucleoproteïden, also den specifischen Zellkernsubstanzen noch über das Leben hinausragende Bedeutung als Sauerstoffüberträger zu und will diese Kraft auf die eigenartige Bindung des Eisens in diesen Stoffen zurückführen. Ob er eine wirkliche Bindung des Sauerstoffes und nachherige Wiederabgabe, also ein Wechselspiel von Oxydation und Desoxydation, wie beim Blutfarbstoff, annehmen will, oder mehr eine Fermentwirkung supponirt, steht dahin. In jedem Fall ist sein Befund gegenüber der sonstigen Unmöglichkeit, Fermente in reinem Zustande zu gewinnen, höchst merkwürdig und für die weitere Betrachtung der Fermente und der ihnen ähnlichen Processe von grosser theoretischer Bedeutung, um so mehr, als man auch andere Fermente (Pepsin, Diastase) als Nucleoproteïde erkannt haben will. Was hier eigentlich vorliegt, ob hier vielleicht eine Art von Zwischenstufe zwischen echten fermentativen und anderen verwandten Processen zu Grunde liegt, lässt sich, vor der Hand wenigstens, nicht entscheiden. Ein grosses Interesse verdient dieser Befund auch in biologischer Hinsicht. Er gestattet Rückschlüsse auf die Function der Nucleoproteïde in der lebenden Zelle resp. ihrem Kern. Man kann, darauf fussend, auch für den lebenden Kern eine grosse Rolle bei den Oxydationsprocessen der Zelle in Anspruch nehmen.

Freilich geht man wohl doch zu weit, wenn man nun den Kern von seinem erhabenen Piedestal, auf dem er, der allgemeinen Anschauung nach, als eigentliches Lebenscentrum thronte, herunterstösst und ihn zu einem einfachen Oxydationswerkzeug, quasi einer Kraftmaschine der Zelle degradirt, wie dies Jacques Loeb[1]) thun will.

Während man bisher aus der Vermehrungsunfähigkeit kernloser Protoplasmaklümpchen eben auf die eminente Wesentlichkeit des Kernes für die Fortpflanzung des Lebens schloss, glaubt Loeb diese Verkümmerung nur einem ungenügenden Sauerstoffumsatz in Folge des fehlenden Kernes zuschreiben zu dürfen. Er hat zur Unterstützung dieser Anschauung gezeigt, dass er kernlose, aber durch ihr Chlorophyll assimilirende, Sauerstoff producirende Algenstückchen lange (5—6 Wochen) am Leben erhalten konnte, während kernlose Infusorien schnell zu Grunde gingen. Er schliesst weiter daraus, dass die Entfernung zweier Kerne ein gewisses Maximum nicht überschreiten

1) J. Loeb, Arch. f. Entwicklungsmech. VIII. 689 (1899).

darf, ohne dass das dazwischenliegende Protoplasma „erstickt“. Es ist hier nicht der Ort, diese Frage weiter auszuspinnen. Ich wollte nur die Bedeutung des Spitzer'schen Befundes in das geeignete Licht rücken.

Das „harnstoffbildende Ferment“: Einen deutlichen Beweis dafür, wie nöthig es ist, über den Begriff des Fermentes ins Klare zu kommen, liefert das Studium der Frage des „harnstoffbildenden Fermentes“.

Bekanntlich wird ein grosser Theil des ausgeschiedenen Harnstoffes in der Leber synthetisch aus kohlensaurem Ammon gebildet. Da man nun eine Reihe von spaltenden Functionen dieses Organs Enzymen zuschreiben darf, die auch in Wasserextracten wirksam sind (sacharificirende und oxydative Vorgänge), so ist man auf die Idee gekommen, ob man nicht auch die Synthese des Harnstoffes, die sich am durchbluteten (überlebenden) Organ demonstriren lässt, in Wasserextracten der Leber nachweisen könnte. Spitzer[1]) stellt die Vorgänge der Oxydation und der synthetischen Harnstoffbildung geradezu in Parallele und wundert sich, dass alle Versuche, durch Leberextracte aus Ammonsalzen Harnstoff zu erzeugen, fehlgeschlagen sind. Wir wissen, dass diese Versuche von vornherein aussichtslos waren.

Denn die synthetische Harnstoffbildung ist ein rein vitaler, endothermaler Process, der wohl am überlebenden Organ demonstrirt werden, niemals aber auf eine Fermentwirkung zurückgeführt werden kann. Ein Ferment kann wohl spalten und oxydiren, niemals aber Synthesen auslösen. Die vitale Harnstoffbildung aus Ammonsalzen ist vielmehr in Analogie zu setzen mit dem synthetischen Stoffwechsel der Pflanzen.

Indessen scheint es doch ein harnstoffbildendes Ferment zu geben, wenn auch in ganz anderem Sinne. So glaubt z. B. Richet[2]) aus der Leber ein durch Alkohol fällbares Enzym gewonnen zu haben, das aus höheren Molecularcomplexen Harnstoff abspaltet. Auch Gottlieb[3]) fand eine Vermehrung des Harnstoffgehaltes beim aseptischen Digeriren von Leberextract. Dies ist theoretisch durchaus möglich; besonders, da wir wissen, dass das Arginin, ein tryptisches Abbauproduct der Proteïde, durch einfache Hydrolyse Harnstoff abspaltet. Auch ist ja Harnstoff als hydrolytisches Spaltproduct der Eiweisskörper längst bekannt. Es wäre also leicht möglich, dass neben der

1) Spitzer, Pflüg. Arch. **71**. 596 (1898).
2) Richet, C. R. **118**. 1127. C. R. soc. biol. 1894. 525.
3) Gottlieb, Münch. med. Woch. 1895. 547.

rein vitalen Synthese des Harnstoffes noch eine andere Quelle desselben bestände; dass er auch durch Spaltungsprocesse entsteht, die durch Enzyme veranlasst werden. Dass Harnstoff durch oxydative Spaltung, besonders von Amidosäuren und Oxysäuren bei Gegenwart von Ammoniak entstehen kann, hat Hofmeister[1]) nachgewiesen.

Dann haben Chassevant und Richet[2]) und Schwarz[3]) bestätigt, dass in aseptisch gehaltenen Leberextracten der Harnstoff sich vermehrt; dass auf diesen Vorgang Ammoniaksalze und Eiweissstoffe, nach Schwarz[3]) auch Oxaminsäure, ohne Einfluss sind, dass aber der Zusatz von harnsaurem Natrium, nach Loewi[4]) auch Glycocoll und Leucin, unter Abnahme der Harnsäure den Harnstoffgehalt beträchtlich ansteigen macht. Es scheint sich also ein Abbau der Harnsäure zu Harnstoff zu vollziehen. Jedoch ist nach Loewi[4]) dieser Stoff nicht Harnstoff, sondern ein nicht näher bestimmter anderer stickstoffhaltiger Körper. Jacoby,[5]) der das Ferment in Extracten aus Hundeleber fand, scheint vielmehr an eine Bildung von Allantoin aus Harnsäure zu glauben, das ja als Stoffwechselprodukt der Harnsäure vorkommt und leicht mit Harnstoff verwechselt werden kann. Die Harnsäurezerstörung in der Leber wurde auch von Ascoli[6]) constatirt.

Loewi erhielt ebenfalls durch Fällen mit Alkohol das Ferment in trockenem Zustande. Die Existenz eines derartigen Fermentes ist also sichergestellt; in Frage steht dagegen noch, was es angreift und welches Product es liefert.

Das glycolytische Ferment: Im engsten Zusammenhang mit der Frage der Oxydasen steht die nach dem sog. „glycolytischen" Fermente des Blutes und der Gewebe.

Schon Cl. Bernard[7]) hatte beobachtet, dass der Zucker des Blutes beim Stehenlassen ziemlich schnell verschwindet, diesem Befund aber weiter keine besondere Beachtung geschenkt. Erst Lépine[8]) hat dieser Erscheinung wieder grössere Aufmerksamkeit zugewendet, besonders in Bezug auf die Aetiologie des Diabetes mellitus, der Zuckerharnruhr. Er nahm an, dass die Ursache der Ueberlastung des Blutes mit Traubenzucker bedingt sei durch einen ungenügenden Verbrauch

1) Hofmeister, A. f. exper. Path. 37. 426 (1896).
2) Chassevant und Richet, C. R. soc. biol. 49. S. 743 (1897).
3) Schwarz, A. f. exp. Path. 41. 60 (1898).
4) Loewi, Z. phys. Ch. 25. 511 (1898).
5) Jacoby, Virch. Arch. 157. 235 (1899).
6) Ascoli, Pflüg. Arch. 72. 340 (1898).
7) Cl. Bernard, Vorlesg. üb. Diabetes übers. v. Posner. 1878. S. 195.
8) Lépine, Ausführliches Autoreferat in der Wiener med. Presse. 1892. No. 26ff.

des Zuckers; und dieser wieder seine Ursache habe in einer Verminderung der glycolytischen Kraft des Blutes, die er auf ein Ferment zurückführt. Die glycolytische Wirkung ist gebunden an die Leucocyten, während das Serum unwirksam ist.

Die Glycolyse ist keine Function der Zellthätigkeit, sondern es lässt sich das Ferment aus den abcentrifugirten Blutkörperchen durch Kochsalzlösung extrahiren.

Das coagulirte Fibrin enthält das Ferment, aber nicht an das Fibrin gebunden, sondern an die mitgerissenen Leucocyten. Beim Auswaschen des Coagulums geht es in das Wasser über.

Lépine nimmt weiterhin an, dass dieses Ferment auch intra vitam aus den Leucocyten sich abspaltet. Seine Bildung ist eine Function des Pancreas. Wenn man das Pancreas reizt, wird die Glycolyse vermehrt, z. B. durch Abbinden des Ductus Wirsungianus oder Durchschneiden der Nerven; bei Ausschaltung des Pancreas soll es verschwinden. Die Pancreasvene enthält mehr Ferment als die Milzvene. Indessen fand Pàl[1]) den Zuckergehalt in der Pancreasvene gegenüber der Arterie nicht vermindert.

Auf den Fortfall der normalen Function des Pancreas, resp. des glycolytischen Fermentes will nun Lépine eine der Ursachen des Diabetes mellitus zurückführen, da eben bei dieser Krankheit parallel mit der Affection des Pancreas eine Verminderung der glycolytischen Kraft des Blutes einhergeht. Dies gilt indessen nicht für den Phloridzindiabetes.

Ausser der zahlenmässigen Verminderung der Glycolyse im diabetischen Blut führt Lépine für seine Anschauung besonders einen Versuch ins Feld, bei dem er bei einem durch Pancreasexstirpation diabetisch gemachten Hund die Zuckerausscheidung im Harn dadurch herabmindern konnte, dass er ihm normalen, also fermenthaltigen Chylus in die Blutbahn infundirte.

Während nun die Existenz eines glycolytischen Fermentes allgemein bestätigt wurde, gehen über seinen Entstehungsmodus, seine Natur und seine Bedeutung die Ansichten weit auseinander (Harley,[2]) Sansoni,[3]) Gaglio).[4])

Seegen[5]) und Arthus[6]) halten die Glycolyse für eine post-

1) Pàl, Wiener klin. Woch. 1891. 4.

2) Harley, Journal of Physiol. XII. 391.

3) Sansoni, Riforma medica. 1891. 1892.

4) Gaglio, Riforma medica 1891. beide cit. n. Minkowski, Arch. f. exp. Path. 31. S. 175 (1893).

5) Seegen, Centralbl. f. Phys. V. No. 25. 26 (1891). Wiener klin. Woch. 1892. 207.

6) Arthus, Archives d. phys. (5.) III. 425 (1891). (5.) IV. 337 (1892).

mortale Erscheinung. Nach Arthus soll sich das Ferment aus den Leucocyten, oder wie er sich vorsichtiger ausdrückt, „d'élements figurés autres que les globules rouges" entstehen. Das wird durch eine Beobachtung von Hahn[1]) unterstützt, der bei Hyperleucocytose eine Vermehrung des Fermentes wahrscheinlich machen konnte.

Arthus und mit ihm Colenbrander[2]) bringen die glycolytische Function in enge Beziehungen zu der Blutgerinnung resp. zu dem Fibrinferment. Dieselben Substanzen, die durch Conservirung der Leucocyten die Entstehung von Fibrinferment hindern, nämlich Fluornatrium und Blutegelextract (Colenbrander), hemmen auch die glycolytische Function. Die Beeinflussung durch Blutegelextract wird von Rywosch[3]) bestätigt.

Wenn auch Lépine (l. c.) versucht hat, die Beziehungen zur Blutgerinnung zu bestreiten und die glycolytische Function als eigenen Process aufrecht zu erhalten, so ist doch jedenfalls die Bedeutung seiner Befunde für die Pathogenese des Diabetes mellitus sehr geschmälert worden dadurch, dass andere Untersucher (Minkowski,[4]) Kraus,[5]) Spitzer)[6]) die Thatsache, dass beim Diabetes das glycolytische Ferment vermindert sei, nicht bestätigen konnten. Kraus fand das glycolytische Ferment zwar im Blut; er wies sogar nach, dass dabei unter Sauerstoffabsorption Kohlensäure entsteht; indessen ist die Glycolyse beim normalen Blut nicht grösser als beim diabetischen; sie ist nur wegen der geringeren Zuckermenge relativ grösser.

Spitzer bestätigte, dass die glycolytische Kraft des diabetischen Blutes der des normalen gleich sei, und wies ferner nach, dass diese oxydative Kraft nicht auf die Zellen des Blutes beschränkt sei, sondern dass sie allen Zellen gemeinsam ist, wodurch also das glycolytische Verhalten des Blutes nicht mehr als eine specifische, sondern als eine Wirkung der oben besprochenen Oxydasen erscheint. Auch Salkowski[7]) schliesst sich dieser Ansicht an.

Lépine[8]) hat dann in neueren Arbeiten behauptet, dass das glycolytische Ferment mit dem oxydirenden nicht identisch sei und hat angegeben, dass man das glycolytische Ferment künstlich aus Malzdiastase durch Behandlung mit verdünnter (0,2procentiger) Schwefel-

1) Hahn, Berl. klin. Woch. 1897. 499.
2) Colenbrander Maly's Jb. 1892. 137.
3) Rywosch, Centralbl. f. Phys. XI. 495 (1897).
4) Minkowski, Berl. klin. Woch. 1892. 5. A. f. exp. Path. 31. 175 (1893).
5) Kraus, Ztsch. f. klin. Med. 21. 315.
6) Spitzer, Berl. klin. Woch. 1894. 949. Pflüg. Arch. 60. 303.
7) Salkowski, Virch. A. 147.
8) Lépine, C. R. 120. 139 (1895).

säure erhalten könne. Diesen Angaben wird indessen von Padéri[1]) und Nasse und Framm[2]) widersprochen.

Indessen hält wieder Jacoby[3]) an der Verschiedenheit beider Fermente fest. Er fand, dass das glycolytische Ferment schon bei 58° zerstört wird, während die Salicylase selbst bei 75° noch nicht völlig unwirksam wird.

Es verhält sich ganz, wie die Enzyme stets: wird durch Kochen zerstört, bindet sich an frisches Fibrin etc. Sein Optimum liegt nach Lépine bei ca. 45°, bei 56° wird es bald zerstört.[4]) Seegen fand, dass seine Wirkung durch Luftzufuhr begünstigt wird. Blutserum schwächt seine Wirkung, besonders auch fremdes Blut.[4]) Seegen konnte weder die Bildung von Kohlensäure noch von Milchsäure nachweisen; Kraus fand Absorption von Sauerstoff und Bildung von Kohlensäure.

Dass die glycolytische Kraft im Allgemeinen beim Diabetes vermindert ist, nehmen auch Achard und Weil[5]) an. Sie constatirten, dass bei Diabetikern die normale Function des Organismus, subcutan eingeführte Glucose zu verbrennen, geschwächt ist, so dass der Zucker schnell im Harn erscheint; auch bei einigen Nichtdiabetikern, fettleibigen Alkoholikern, konnte man auf diese Weise Glycosurie hervorrufen, so dass Achard und Weil geneigt sind, von einer forme fruste des Diabetes zu sprechen. Dagegen gehen Galactose und Fructose nur in Spuren in den Harn über, wenn man sie in solchen Fällen subcutan injicirt.

Meine eigenen Versuche sind leider noch nicht zum Abschluss gelangt. Ich habe mich bestrebt, der Frage näher zu treten, was denn bei der Glycolyse im Blut aus dem Zucker wird. Wenn man die Spaltung als fermentative ansieht, so liegt es nahe, entweder eine Bildung von Alkohol oder von Milchsäure zu vermuthen. Beide kommen ja unter bestimmten Bedingungen im Organismus vor.

Alkohol konnte ich aus künstlich mit Zucker versetztem Blut, das 48 Stunden im Brutschrank unter Vermeidung der Fäulniss gestanden hatte, in irgendwie nennenswerthen Mengen jedenfalls nicht auffinden; Spuren eines jodoformgebenden Körpers, der die Denigès-sche Acetonreaction nicht gab, erhielt ich allerdings.

Dagegen scheint, freilich erst nach einer Versuchsreihe, eine Bildung von Milchsäure einzutreten, so dass man, wenn diese Resultate sich bei der Fortsetzung meiner Arbeit bestätigen, das glyco-

---

1) Padéri, Soc. med. chir. de Pavia. 1896. Maly's Jahrb. 1896. S. 121.
2) Nasse und Framm, Pflüg. Arch. 63. 203 (1896).
3) Jacoby, Virch. A. 157. 235 (1899).
4) Hahn, Berl. klin. Woch. 1897. 499.
5) Achard und Weil, C. R. soc. biolog. 1898. 139. 986.

lytische Ferment als ein milchsäurebildendes Enzym aufzufassen hätte (s. b. Milchsäuregährung).

Ausser im Blut kommt das glycolytische Ferment auch in den Organen vor. Auch hier zeigen sich Verschiedenheiten von dem oxydativen Ferment. So fand Jacoby (l. c.) in der Leber eines Diabetikers zwar die glycolytische Kraft aufgehoben, die Oxydase aber vorhanden. Blumenthal[1]) fand, dass das Pancreas bei sehr geringer oxydativer Kraft stark glycolytisch wirkt, während die Milz sich gerade umgekehrt verhält.

Blumenthal stellte dann nach einem Verfahren, das dem der Buchner'schen Zymasegewinnung (s. o.) ähnlich ist, bei 75—100 Atmosphären Druck Presssäfte aus Leber etc., besonders aber Pancreas dar, die glycolytisch wirkten und auch Kohlensäure bilden sollen.

Versuche, mit solchen glycolytischen Presssäften heilend auf den Diabetes einzuwirken, sind bis jetzt ebenso ohne greifbares Resultat geblieben, wie die Verfütterung von Pancreas etc.[2]) Seine Resultate werden neuerdings von Umber[3]) bestritten. Er fand die glycolytische Kraft des Pancreas und des Pancreasvenenblutes nicht grösser als die im Blut allgemein vorhandene. Die Gasentwicklung der Presssäfte schreibt er einer Bacterienwirkung zu.

In menschlichem Pancreas (aus Leichenmaterial) konnte Pierallini[4]) eine geringere glycolytische Kraft finden als Blumenthal in frischen Organen.

Das Vorkommen von glycolytischem Ferment im Harn ist sehr zweifelhaft.

Jecorin: Da stets der Zuckergehalt des Blutes an der Hand der Reductionskraft gemessen wird, so leiden alle Zuckerbestimmungen im Blut darunter, dass der Zucker im Blut zum grössten Theil nicht frei, sondern an Lecithin gebunden vorkommt, und daraus erst bei der Spaltung frei wird, während auch diese Verbindung an sich etwas reducirt.

Drechsel[5]) fand diese Verbindung, die in Aether löslich ist, zuerst in der Leber und nannte sie Jecorin. Er hielt sie für eine Verbindung von Lecithin mit einem Zucker. Dies wurde dann von Manasse[6]) bestätigt und der Zucker als Glucose erkannt. Im Blut fanden das Jecorin Jacobsen[7]) und Henriques.[8]) Bing[9]) gelang dann der Nachweis, dass

1) Blumenthal, Z. f. physikal. u. diätet. Ther. 1898. 250.
2) Litteratur s. b. Blumenthal, l. c.
3) Umber, Z. klin. Med. 39. 12 (1900).
4) Pierallini, Z. klin. Med. 39. 26. (1900).
5) Drechsel, J. f. pr. Ch. N. F. 33. 425 (1886).
6) Manasse, Z. phys. Ch. XX. 478 (1895).
7) Jacobsen, Centralbl. f. Phys. VI. 369 (1892).
8) Henriques, Z. phys. Ch. 23. 244 (1897).
9) Bing, Centralbl. f. Physiol. XII. 210 (1898).

auch dem Blut zugesetzter Zucker sich noch zu Jecorin verbindet, und dass auch aus reinem Lecithin und Traubenzucker ein dem Jecorin sehr ähnlicher Stoff entsteht.

Die Oxydasen der Pflanzen: Dass die Pflanzenzellen ähnliche katalytisch wirkende Stoffe enthalten, wie die thierischen, wurde schon von Schönbein[1]) erkannt an ihrer Wirkung auf Wasserstoffsuperoxyd und an den spontanen Farbveränderungen, z. B. von Pilzen. Die spontane Oxydation natürlicher Pflanzenchromogene wurde dann von Pfeffer[2]) beschrieben. Struve[3]) fand, dass Pyrogallol in Berührung mit Gummi arabicum zu Purpurogallin oxydirt wird; van den Broek,[4]) dass viele Pflanzenauszüge Guajactinctur bläuen, ebenso Schaer[5]) bei der Phytolacca decandra, dem Malzinfus etc. Pohl[6]) konnte mit pflanzlichen Extracten, z. B. aus Tannennadeln, die Indophenolreaction erhalten, aber nicht die Oxydation von Formaldehyd.

Dann berichtete Bertrand[7]) in zahlreichen Arbeiten über ein von ihm zuerst aus dem tonkinesischen Lackbaum, Rhus vernicifera, dargestelltes oxydatives Ferment, die Laccase, die vor ihm schon von Yoshida[8]) kurz beschrieben war, und die Oxydation des gelben Rindensaftes zu dem schönen, tiefschwarzen Lack bewirkt. Bertrand fand sie dann weiterhin in vielen Phanerogamen und Pilzen, sowie im Gummi arabicum. Die Laccase besteht zum grössten Theil aus Kohlehydraten, die bei der Spaltung Galactose und Arabinose liefern, und einer manganreichen Asche. Sie soll stickstofffrei sein. Sie ist besonders dadurch ausgezeichnet, dass sie namentlich die mehrwertigen Phenole, wie Pyrogallol, Hydrochinon etc. oxydirt, die einfachen dagegen unbeeinflusst lässt. Ebenso bleiben die Meta-Phenole, wie Phloroglucin und Metamidophenol unverändert, während die Para-Phenole, besonders Hydrochinon leicht angegriffen werden. Seine Beobachtungen wurden von anderen französischen Untersuchern bestätigt. Tolomei[9]) fand ein laccaseähnliches Fer-

---

1) Schönbein u. a. Z. f. Biol. 1868. Einen Ueberblick über die gesammten Arbeiten Schönbein's auf diesen Gebieten giebt Schaer, Z. f. Biol. **37**. 320 (1899).

2) Pfeffer, Ber. d. d. bot. Ges. III. 82 (1889).

3) Struve, Ann. d. Chem. u. Pharmac. **163**. S. 160. cit. n. Bertrand, l. c.

4) *van den Broek, Jahresb. d. Ch. v. Liebig u. Kopp. 1849 und 50. S. 455.

5) Schaer, Apothekerztg. 1894. 749.

6) Pohl, A. f. exp. Path. **38**. 65.

7) Bertrand, C. R. **118**. 1215. **120**. S. 266. **121**. S. 166. 783. **122**. S. 1132. Archives d. physiol. **1896**. S. 23.

8) Yoshida, Journ. of Chem. Soc. **43**. S. 472 (1883).

9) Tolomei, Maly's Jb. 1896. S. 913.

ment im Wein, dem er eine Rolle bei der Bildung des Bouquets zuschreibt (s. a. unten „Oenoxydase").

Bourquelot[1]) fand, dass bei successiver Einwirkung von Emulsin und einer pflanzlichen Oxydase auf Salicin aus dem primär entstehenden Salicylalkohol Salicylaldehyd entsteht und nimmt an, dass ein derartiger Process sich wohl auch in den Pflanzen selbst, z. B. in der Spiraea ulmaria abspielen möge, in der sich Salicylaldehyd vorfindet.

Eine andere Oxydase, die eine specifische Wirkung auf Tyrosin ausübt, die Tyrosinase will Bertrand[2]) im Rübensaft, in der Dahlia und in einigen Pilzen, besonders Russula aufgefunden haben. Sie soll die spontane Dunkelfärbung des Rübensaftes verschulden. Sie ist nach Bertrand verschieden von der Laccase und kommt mit dieser gleichzeitig vor. Das Ferment ist sehr unbeständig, wird durch Erwärmen auf 55° und durch Alkohol zerstört.

Harlay[3]) benutzt die Tyrosinase von Russula delica zum Nachweis des Tyrosins in Verdauungsgemischen und glaubt dadurch peptische und tryptische Verdauungen von einander trennen zu können. So fand er auch bei der Papaïnverdauung die typische Braunfärbung des Tyrosins.

Laccase wirkt nicht auf Tyrosin. Bei seinen zahlreichen Untersuchungen über die Enzyme der Pilze hat dann Bourquelot[4]) ausser proteolytischen auch oxydirende Fermente beschrieben, die alle Phenole[5]) oxydiren. Auch die Tyrosinase fand er.[6]) Er fand auch Oxydasen in Gummiarten.[7]) Rey-Pailhade[8]) fand dann in Pflanzentheilen auch jenes für die thierischen Organe characteristische Ferment, das Indophenolreaction giebt, was Laccase nicht thut, das sich indessen durch Löslichkeit in Wasser und verdünntem Spiritus von dem thierischen unterscheidet.

Cornu[9]) hat in fast allen Organen des Weinstockes Oxydasen gefunden, die durch Alkohol absolutus zerstört werden.

Das Leuchten von Thieren und Pflanzen wird von Dubois[10]) einem

---

1) Bourquelot, C. R. soc. biol. **48**. 516 (1896).

2) Bertrand, C. R. **122**. 1215. **123**. 463. Bull. Soc. Chim. **1896**. S. 793.

3) Harlay, Chem. Centralbl. **1899**. II. 850. **1900**. I. 676.

4) Bourquelot, Journ. d. pharm. et chim. [6.] IV. 145. 241. 440. V. 465. VI. 426. C. R. soc. biol. **48**. 811. 825. 893. 896 (1896). Bourquelot und Bertrand, Bull. soc. myc. XII. 18. 27. S. A.

5) Bourquelot, C. R. **123**. 315. 423.

6) idem. Bull. soc. mycol. XIII. 65. S. A.

7) idem. C. R. soc. biol. **49**. 25 (1897).

8) Rey-Pailhade, C. R. soc. biol. **48**. 479 (1896).

9) Cornu, Journ. d. pharm. et chim. [6.] X. 342 (1899).

10) Dubois, C. R. **123**. 653 (1896).

oxydirenden Ferment, dem er den poetischen Namen Luciferase gegeben hat, zugeschrieben.

Auch die Fermentation der Tabaksblätter, die man bisher für eine Bacterienwirkung hielt, soll nach Loew [1]) auf einer Oxydase beruhen.

Ein weiteres oxydirendes Ferment soll das „Brechen" oder „Umschlagen" des Weines, eine spontan eintretende Entfärbung desselben hervorrufen. Es soll der Laccase ähnlich sein, und ist „Oenoxydase" getauft. Es ist aus dem Wein durch Alkoholfällung, an einen gummiartigen Körper gebunden, darzustellen. Es soll auch bei dem Altern der Weine eine Rolle spielen. Es wird durch Pasteurisiren des Weines bei 60° vernichtet, desgleichen durch schweflige Säure; darauf soll zum Theil die wohlthätige Wirkung des Schwefelns der Fässer beruhen (Gouirand,[2]) Martinaud,[3]) Laborde,[4]) Cazeneuve,[5]) Bouffard,[6]) u. A.). Laborde bringt ihre Wirksamkeit mit dem Pilz der Edelfäule, Botrytis cinerea, zusammen, was indessen Cazeneuve bestreitet. Aspergillus etc. liefern keine Oenoxydase. Brissemoret und Jeanne [7]) fanden eine Oxydase in der Digitalis. Lindet[8]) will das Dunkelfärben des Apfelsaftes auf eine Oxydase zurückführen, die das Tannin oxydirt.

Man hat bei dieser Massenproduction von Oxydasen etc., mit denen wir von französischen Biochemikern seit einigen Jahren beschenkt werden, das unerquickliche Gefühl, als ob ein grosser Theil dieser „Enzyme" einer ernsten Prüfung nicht Stand halten würde, zumal da auch nicht ein einziges in angenähert reinem Zustande dargestellt ist. Der einzige deutsche Chemiker, der sich m. W. mit der „Laccase" näher beschäftigt hat, ist sehr geneigt, ihre „Fermentwirkung" auf die längst bekannte katalytische Wirkung der reichlich in ihr vorhandenen Mangansalze zurückzuführen (Ruff). [9])

Diese Erkenntniss scheint sich auch bei den Franzosen allmählich Bahn zu brechen. Wenigstens hat Bertrand [10]) die katalytische Wirkung der Mangansalze in der Laccase einer genaueren Untersuchung gewürdigt und schreibt ihnen grosse Bedeutung zu. Freilich lässt er die specifische Wirksamkeit der Laccase noch nicht fallen, sondern glaubt nur, den Mangansalzen eine unterstützende Kraft vindiciren zu dürfen und bezeichnet sie deshalb als Co-Fermente. Die Lac-

1) Loew, C. f. Bacteriol. (II.) VI. 109 (1900). cit. n. Chemiker-Ztg. 1900 (März).
2) Gouirand, C. R. 120. 887 (1895).
3) Martinaud, C. R. 120. 1426.
4) Laborde, C. R. 123. 1074 (1896).
5) Cazeneuve, C. R. 124. 406. 781 (1897).
6) Bouffard, C. R. 124. 706.
7) Brissemoret und Jeanne, Journ. Pharm. et Chim. (6.) VIII. 481. Chem. Centralbl. 1899. I. 133.
8) Lindet, C. R. 120. 370 (1895).
9) Ruff, Privatmittheilung.
10) Bertrand, C. R. 124. 1032. 1355 (1897). s. d. a. Denigès, C. R. 130. 32 (1900).

case aus Luzernen enthält sehr wenig Mangan, wirkt aber auch sehr schwach. Er nimmt an, dass Manganoxydul als Sauerstoffüberträger wirkt, indem es sich abwechselnd zu $Mn O_2$ oxydirt und seinen Sauerstoff wieder abgiebt. Das Ferment selbst soll eine salzähnliche Verbindung des Manganoxyduls mit einem Proteïnkern sein und das erstere der Träger der Action. Er giebt also ähnlichen Speculationen Raum wie Spitzer bei seinen Nucleoproteïden (s. S. 293).

Schwer erschütternd für die Lehre von den „Oxydasen" ist auch die Angabe von Nasse und Framm,[1] dass die Guajacbläuung durch Pflanzensäfte auch bei Abwesenheit von Sauerstoff eintritt; sie nehmen vielmehr „hydroxylirende Fermente" an.

Wie dem auch sein mag, jedenfalls sind die „Fermente", die die Guajacbläuung hervorrufen, noch die am ehesten sichergestellten. Sie finden sich, wie oben kurz erwähnt, in sehr vielen Pflanzen und Pflanzentheilen. Ihre Wirksamkeit ist theils die der „directen" Oxydasen, theils bläuen sie die Guajaclösung nur durch Vermittlung von Wasserstoffsuperoxyd, sind also „indirecte Oxydasen", die wohl zuerst von Pfeffer[2]) genauer untersucht worden sind.

Raciborski[3]) hat diese Blaufärbung mit Wasserstoffsuperoxyd und Guajac in sehr vielen Pflanzen, speciell im Leptom aufgefunden, und führt sie auf einen besonderen Stoff, das Leptomin, zurück. Grüss[4]) hat dann die ganze Frage einer genauen Untersuchung unterzogen. Er fand die „indirecten" Oxydasen ebenfalls im Phloëm, bei ruhenden Hölzern ausser im Leptom auch im allerjüngsten Holz, dagegen nicht im Mark, im Xylem und in der Rinde. Nach der Winterruhe beginnt auch die Markkrone die Reaction zu zeigen.

Directe Oxydasen fand er dagegen besonders in der Wand der Gefässe wandernd.

Ich kann hier natürlich nicht auf alle anatomischen Einzelheiten der Grüss'schen Arbeit eingehen, ich muss jedoch noch der sehr weitgehenden theoretischen Consequenzen gedenken, die er aus seinen Befunden zieht.

Er stellt nämlich die Ansicht auf, dass diese Oxydationsreactionen, in sehr enger Beziehung zur Diastase stehen. Obwohl er den Nachweis von Jacobson, dass man der Diastase die katalytische Wirkung nehmen kann (s. S. 45), anführt, glaubt er doch auf Grund eigener Versuche annehmen zu dürfen, dass es eine wesentliche Eigen-

1) Nasse und Framm, Pflüg. A. 63. 203 (1896).
2) Pfeffer, Ber. d. d. botan. Ges. III. 82 (1889).
3) Raciborski, Ber. d. d. botan. Ges. XVI. 119 (1898).
4) Grüss, ibid.

schaft der Diastase selbst ist, diese katalytischen Wirkungen auszuüben. In diesem Sinne hält er den Nachweis von gewissen katalytischen Reactionen für sehr eng verbunden, vielleicht identisch mit dem von Diastase, speciell der Translocationsdiastase von Brown und Morris (s. S. 175). Er kommt dadurch zu einer Dreitheilung der oxydativen Fermente der Pflanzen:

1) die α-Oxydasen sind directe Oxydasen; sie finden sich an verschiedenen Stellen der Pflanzen, sind durch Glycerin ausziehbar, werden durch Alkohol zerstört.

2) die β-Oxydasen sind nur bei Gegenwart von Wasserstoffsuperoxyd wirksam, gegen Alkohol beständig. Hierher gehört das Leptomin Raciborski's. Sie entsprechen also den indirecten Oxydasen.

3) die γ-Oxydasen. Sie lassen sich besonders darstellen, wenn man z. B. eine Kartoffel durchbohrt und die Wunde heilen lässt, dann finden sie sich nur in den Peridermzellen dieser Wunde. Sie wirken stark hydrolytisch, schwach katalytisch. Und hierher soll nach Grüss auch die Diastase, speciell die Translocationsdiastase gehören, jedoch auch die Secretionsdiastase und die Cytase, dagegen fehlen oxydative Eigenschaften der Diastase von Penicillium.[1])

Man kann sich schwer zu dieser Vorstellung entschliessen, obwohl es besonders für einen Nichtbotaniker kaum möglich ist, sie experimentell zu widerlegen. Man muss abwarten, ob sich nicht aus Fachkreisen Widerstand dagegen erheben wird.[2]) Aber wir können kaum anders, als uns vorzustellen, dass zwar möglicherweise die Diastase unter gewissen Bedingungen ständig von solchen katalytischen Stoffen begleitet wird, sodass man diese Reaction mit Vortheil zur Aufsuchung des Fermentes in pflanzlichen Organen anwenden kann; aber an eine wirkliche Identität der Diastase mit solchen Stoffen zu glauben, dazu liegt doch noch keine sicher begründete Veranlassung vor.

1) Grüss, Festschr. f. Schwendener 1899. S. 184. (Berlin).

2) Ist inzwischen von Raciborski geschehen. s. *Flora. 1900.

Vierundzwanzigstes Capitel.

Oxydative Gährungen.

Während wir bei den bisher besprochenen oxydativen Fermentationen mit Enzymen zu thun hatten, die ohne Mitwirkung lebender Zellen die Uebertragung von Sauerstoff vermitteln, giebt es noch eine Reihe von Processen, bei denen Oxydationen so eng im Connex mit lebenden Zellen vor sich gehen, dass es bislang wenigstens unmöglich gewesen ist, die dabei wirksamen Fermente zu isoliren. Indessen handelt es sich hier auch um exothermale Vorgänge specifischer Natur, so dass wir sie mit einigem Recht als Fermentprocesse auffassen dürfen.

Der Hauptrepräsentant dieser Classe von Fermentationen ist die

Essiggährung: Dass verdünnter Alkohol beim Stehenlassen an der Luft allmählich sauer wird, ist eine seit den ältesten Zeiten bekannte und zu praktischen Zwecken benutzte Erfahrung. Der chemische Vorgang dabei wurde naturgemäss bis zu dem Beginn der modernen chemischen Forschung nicht erkannt. Der erste, der die Absorption der Luft, also des Sauerstoffes bei diesem Sauerwerden der Weine beobachtete, war Rozier[1]) gegen Ende des 18ten Jahrhunderts. Die Gleichung des Vorganges wurde dann im Wesentlichen von Döbereiner[2]) fundirt.

Später entbrannte über die Frage der Ursächlichkeit der Essiggährung derselbe Streit zwischen Liebig[3]) und Pasteur,[4]) wie der, den wir bei der Alkoholgährung geschildert haben. Es standen sich auch hier die Liebig'sche Ansicht einer Fermentation durch sich zersetzende albuminoide Substanz und die vitale Erklärung der Pasteur'schen Schule gegenüber, und auch hier neigte sich der Sieg den Anhängern der vitalistischen Theorie zu: der Zusammenhang der

1) cit. n. A. Mayer, Gährungschemie, l. c. S. 170.
2) *Döbereiner, Schweigger's Journ. f. Chemie. VIII. 321.
3) Liebig, s. u. a. Journ. f. pr. Ch. N. F. I. 35. 312.
4) *Pasteur, s. bes. Etudes sur le vinaigre. Paris 1868.

Essiggährung mit einer Reihe von niederen Organismen wurde unwiderleglich bewiesen.[1] Bevor wir auf diese Frage näher eingehen, müssen wir uns erst mit dem Chemismus der Reaction beschäftigen. Sie verläuft sehr einfach nach der Formel

$$CH_3CH_2OH + 2\ O = CH_3 \cdot COOH + H_2O,$$

wobei wir eine intermediäre Bildung von Acetaldehyd CH_3 CHO annehmen müssen.

Die Fermentreaction verläuft ganz glatt in diesem Sinne, denn dass sich stets geringe Mengen Aldehyd noch nachweisen lassen, ist kein secundärer, nebenhergehender Process, sondern stellt nur den augenblicklichen Zustand des Reactionsverlaufes dar, bei dem ja stets eine Entstehung und Weiteroxydirung des Aldehyds eintritt.

Die Bedingungen, unter denen die Essigbildung vor sich geht, fallen im Wesentlichen mit der Beeinflussung der Mikroorganismen zusammen; sie findet nur in verdünnten alkoholischen Lösungen statt und verläuft am besten bei 25—30°, sehr träge unter 10° und über 35° und wird bei einer nur wenig höheren Temperatur völlig sistirt.

Die Biologie der Essigsäure: Auf den sauer werdenden Flüssigkeiten bildet sich eine Haut, die sogenannte Kahmhaut, die Liebig als das Ferment betrachtete, das bei seiner Zersetzung die Uebertragung des Sauerstoffes herbeiführen sollte.

Zuerst von Kützing,[2] dann von Thomson[3] wurden indessen lebende Pflanzenzellen als Bestandtheile dieser Kahmhaut erkannt und dann besonders von Pasteur[4] unter dem Namen Mycoderma aceti beschrieben und für die Erregung der Essiggährung verantwortlich gemacht. Da indessen der Name Mycoderma auf eine Beziehung zu Sprosspilzen hinweisen würde, die ähnliche Häute auf alkoholischen Flüssigkeiten bilden, ohne Essiggährung zu veranlassen, so hat man nach dem Vorgang von Zopf die Erreger der Essiggährung unter dem Gattungsnamen Bacterium vereinigt, der ihnen den richtigen Platz unter den Spaltpilzen anweist.

Man kennt jetzt eine ganze Reihe von solchen Essigpilzen, ausser dem Bacterium aceti noch das B. Pasteurianum, B. Kuetzingianum (Hansen),[5] B. oxydans, B. acetosum, B. acetigenum, Termobacterium aceti u. a. m.[6]

---

1) Zur Geschichte der Essiggährung s. Lafar, C. f. Bact. XIII. 684 (1893).

2) Kützing, J. pract. Ch. XI. 390.

3) Thomson, Ann. Chem. Pharm. 83. 89 (1852).

4) *Pasteur, s. bes. Etudes sur le vinaigre. Paris 1868.

5) Hansen, Unters. a. d. Technik d. Gährungsgewerbes. 1895.

6) Vgl. u. A. *Wermischeff, Ann. Past. 1893. 213. Henneberg, C. f. Bact. (2.) IV. 14. 71 (1898). Hoyer, ibid. 867. Chem. Centralbl. 1899. I. 854.

Dass auch ein Sprosspilz Essiggährung hervorrufen kann, ist von Lafar[1]) beobachtet worden. Jedenfalls gilt dies aber nicht von dem Sacharomyces Mycoderma Reess, der keine Essiggährung erzeugt, sondern den Zucker direct verbrennt.

Die Keime dieser Mikroben kommen überall in der Luft vor, so dass alkoholische Flüssigkeiten, die der Luft ausgesetzt werden, bald von ihnen befallen werden. Wenn man dagegen die Luft abschliesst, bleiben die Flüssigkeiten steril, und es tritt keine saure Gährung ein. Der Nachweis für die unumgänglich nöthige Anwesenheit dieser Spaltpilze bei der Essiggährung ist in derselben Weise geführt worden, wie bei der Alkoholgährung, so dass wir hier nicht näher darauf einzugehen brauchen.

Auch die Lebensbedingungen sind denen anderer Mikroben sehr ähnlich. Sie sind natürlich obligate Aërophile, gedeihen in allen Culturflüssigkeiten und können wie die Hefepilze ihren Stickstoffbedarf auch aus Ammonsalzen decken.

Bei ca. 60° werden sie getötet, während ihre Fermentthätigkeit schon etwas früher erlischt. Bei Temperaturen von unter 12—15° erlahmt ihre Thätigkeit. Im Uebrigen wirken Protoplasmagifte auf sie ganz analog wie auf die Hefepilze, nur gegen schweflige Säure zeigen sie eine viel grössere Empfindlichkeit, so dass man die Weine durch das „Schwefeln" mit Erfolg gegen ihre Thätigkeit schützen kann. Dass directes Sonnenlicht ihre Entwicklung stark hindert, hat Giunti[2]) nachgewiesen. Tolomei[3]) fand, dass electrische Ströme, aber nur während ihres Durchgehens, die Essiggährung stören. Alkohol von über 10 % tötet die Mikroben. Eine Besonderheit haben sie naturgemäss: Neben einer grossen Empfindlichkeit gegen Alkalien (Henneberg)[4]) eine grosse Resistenz gegen Essigsäure. Sie scheinen erst bei einem Säuregehalt von ca. 2 % in vollster vitaler Blüthe zu stehen, sind aber auch gegen viel höhere Concentrationen unempfindlich. Es liegt hier ein sehr bemerkenswerthes Beispiel intensivster Anpassung an die Lebensbedingungen bei den sonst so säurefeindlichen Bacterien vor. Sie sind allerdings gegen Salzsäure sehr empfindlich (Cohn).[5]) Sie sind auch im Stande, Glucose zu vergähren, einige auch Arabinose, Mannit, Erythrit etc. Desgleichen können sie auch Propylalkohol oxydiren (Henneberg).[4])

Eine besondere Stütze seiner chemischen Theorie fand Liebig

1) Lafar, C. f. Bacter. XIII. 1864 (1893).
2) Giunti, Maly's Jb. XX. 439 (1890).
3) Tolomei, Koch's Jahrb. Gährgsorg. 1890. 139.
4) Henneberg, l. c.
5) Cohn, Z. physiol. Ch. XIV. 75 (1890).

in dem Umstande, dass dieselbe Oxydation von Alkohol zu Essigsäure auch durch Platinmohr, also activirten Sauerstoff ohne lebende Zellen, vor sich geht. Jedoch haben A. Mayer und Knieriem[1]) nachgewiesen, dass die Bedingungen dieser Reaction so total andere sind, dass man eben nur ihre Endresultate vergleichen kann, wie man auch bei den hydrolytischen Fermentationen dieselben Abbauproducte durch verdünnte Säuren erzielt, und wie man natürlich auch anderweitig rein chemisch den Alkohol in Essigsäure überführen kann, z. B. durch Chromsäure etc.

Die Alkoholoxydation durch Platinmohr geht nämlich mit Alkohol jeder Concentration und mit seinem Dämpfen in gleicher Weise vor sich, während die Essiggährung mehr als 10 Proc. Alkohol nicht verträgt. Sie wächst ferner mit steigender Temperatur, wo die Gährung längst völlig verschwunden ist.

Wir müssen aus alledem das Facit ziehen, dass es bei der Essiggährung noch absolut keinen Anhaltspunkt giebt, um die hypothetische Fermentwirkung von dem rein vitalen Process zu sondern, wofür wir ja bei der Alkoholbildung der Hefe einige Fingerzeige, auch abgesehen von den beweisenden Buchner'schen Versuchen, auffinden konnten.

Nur unsere energetische Stellungnahme berechtigt uns, diesen Process, der als exothermal unsere Bedingungen erfüllt, den Fermentprocessen zuzuweisen. Vielleicht indessen ist der Tag nicht weit, wo auch die „Oxydase“ der Essigpilze von ihrer lebenden Zelle losgelöst werden wird.

Ausser dieser Essiggährung, die die wichtigste oxydative Gährung darstellt, giebt es noch einige verwandte Processe, die von Mikroorganismen ausgelöst werden und die wir ebenfalls, als zu den Oxydationsgährungen gehörig, kurz erwähnen wollen.

Eine Vergährung von Zuckern und zwar u. A. d-Glucose, Galactose, Mannit etc. zu Oxalsäure beschreibt Zopf,[2]) die durch einen echten endosporen Sacharomyces, S. Hansenii ausgelöst wird, der im Baumwollsaatmehl gefunden wurde. Er bildet keinen Alkohol.

Citronensäure entsteht aus Zuckern durch zwei specifische Hyphomyceten, Citromyces Pfefferianus und glaber, nach Wehmer[3]) in sehr reichlicher Menge; auch diesen Vorgang kann man als eine Oxydationsgährung auffassen.

---

1) A. Mayer und Knieriem, Landw. Versuchsstat. XVI. 305. cit. n. A. Mayer, l. c.

2) Zopf, Ber. d. d. botan. Ges. 1889. 94.

3) Wehmer, Sitzb. d. Berl. Acad. Math. Phys. Cl. 1893. 519.

Eine Oxydationsgährung, deren Product eine Ketohexose, die Sorbose ist, beschreibt Bertrand.[1])

Man hatte schon vorher im Safte der Vogelbeeren, die in frischem Zustande den sechswerthigen Alkohol Sorbit enthalten, eine eigenartige Ketohexose, die Sorbose aufgefunden, doch fand man sie nicht immer, und die Bedingungen ihres Entstehens waren unbekannt.

Bertrand constatirte nun, dass diese Bildung von Sorbose geknüpft ist an die Entwicklung eines Mikroorganismus, den er als wahrscheinlich identisch mit dem Bacterium xylinum hinstellt,[2]) und der in die Masse hineingelangt durch Vermittlung einer kleinen rothen Fliege, Drosophila funebris. Der beste Nährboden für dieses Bacterium ist eine Mischung von Wein und Essig. Es hat die Fähigkeit, Sorbit zu Sorbose zu oxydiren, Mannit zu Fructose (Vincet und Delachanel)[3]); ferner alle mehratomigen Alkohole, wie Erythrit, Arabit etc., auch Glycerin (zu krystallisirtem Dioxyaceton), sowie auch Xylose zu Xylonsäure (Bertrand).[4]) Ein Bacterienferment, das Glucose zu Gluconsäure oxydirt, fand Boutroux im Micrococcus oblongus; ein anderes oxydirte die erst gebildete Gluconsäure in Form ihres Kalksalzes weiter zu Oxygluconsäure.[5])

Es unterliegt keinem Zweifel, dass es auch sonst noch unter den von niederen Organismen bewirkten Umsetzungen so manchen Process giebt, den man als Oxydationsgährung zu bezeichnen ein Recht hätte; indessen habe ich nur diese wenigen herausgegriffen, weil sie relativ einfach und einheitlich verlaufen, während andere zu eng mit anderen biochemischen Processen verknüpft sind. Die hier angeführten erfüllen jedenfalls in vollem Maasse die energetische Bedingung und man kann sie deshalb wohl unter die Fermentprocesse einreihen.

---

1) Bertrand, C. R. **122**. S. 900 (1896).

2) Dies ist dann von Emmerling bestätigt worden, s. Chem. Ber. **32**. 541 (1899).

3) Vincet und Delachanel, C. R. **125**. 716 (1897).

4) Bertrand, C. R. **126**. 842. 984. **127**. 124. 728. 762 (1898).

5) Boutroux, Ann. Inst. Past. II. 308 (1887). C. R. **127**. 1224 (1898).

Systematisches Litteraturverzeichniss.[1]

1) Lehrbücher.

1) Cl. Bernard, Leç. d. physiol. expér. Paris 1856.
2) Brücke, Vorlesg. über Physiologie. 1874.
3) Effront, „Die Diastasen", übers. v. Bücheler (Leipzig 1900). I. Bd.[2]
4) Flügge, Die Microorganismen. II. Aufl. 1896.
5) Gamgee, Physiolog. Ch. der Verdauung. Uebers. von Asher und Beyer, Leipzig u. Wien 1897.
6) Hammarstén, Lehrb. d. physiol. Ch. 1895.
7) Hoppe-Seyler, Lehrb. d. physiol. Ch. 1881.
8) Kühne, Lehrb. d. physiol. Ch. 1866.
9) Mayer, Gährungschemie Heidelb. 1896. Enzymologie. ibid. 1882.
10) Neumeister, Lehrb. d. physiol. Chemie. 1893.
11) Pfeffer, Pflanzenphysiologie. Leipzig 1881.

2) Fermente und Gährungen im Allgemeinen. Natur der Fermente etc.

12) Arthus, La nature des Enzymes. Thèse. Paris 1896.
13) *Balling, Gährungschemie. 1845.
14) *Bardet, Bull. d. l. soc. d. Thér. XVIII. 13 (1887). (Lösl. in Alcohol).
15) Chodjujew, Arch. d. phys. 1898. 241 (Dialyse).
16) Dastre, C. R. soc. biol. 1895. 414. (Lösl. in Alcohol).
17) Dastre, Arch. d. phys. (5). VIII. 120 (1896). (Lösl. in Alcohol).
18) Dumas (gegen Liebig's Theorie), Ann. Chim. Phys. (5). III. 59 (1874).
19) Fick, Pflüg. A. 45. 293 (1889). (Labferment).
20) Friedenthal, Arch. f. Anat. u. Physiol. Phys. Abth. 1900. 181. (Nucleoproteïde).
21) Gay-Lussac, Ann. d. Chim. 76. 247 (1810). (Bedeutg. des O).
22) Green, Annals of botany. VII. (vitaler Process).
23) Grützner, Pflüg. Arch. XII. 288. XVI. 119. (tier. F.).
24) Hammarstén, Maly's Jb. III. 160 (Dialyse).

---

1) Es liegt in der Natur der Arbeiten über unser Thema, dass man bei dieser systematischen Eintheilung etwas willkürlich zu Werke gehen musste, wenn man zahllose Wiederholungen vermeiden wollte. Die mit * bezeichneten Citate sind aus zweiter Hand geschöpft.

2) Mir erst zugänglich geworden, als mein Manuscript im Wesentlichen abgeschlossen war.

25) Hansen, Arb. a. d. bot. Inst. Würzb. III.
26) Hoppe-Seyler, Pflüg. Arch. XII. 1 (Einteilg. d. F).
27) Hüfner, J. pract. Ch. N. F. X. 148. 385 (1874). (Katalyse).
28) Jacobson, Z. phys. Ch. XVI. 367 (1892). ($H_2 O_2$).
29) de Jager, Virch. A. 121. 182 (1890). (Fernewirkg.).
30) Kassowitz, Allgem. Biologie. Wien 1899.
31) Kopp, Geschichte der Chemie. Bd. IV. 285 ff.
32) Latschenberger, C. f. Phys. IV. No. 1. (1890). (Labversuch v. Fick).
33) Lea und Dickinson, J. of. physiol. XI. 307. (Labversuch v. Fick).
34) Lea, Proceed. Royal Soc. 36. 55. (1883). (Dialyse).
35/36) Liebig, Ann. d. Chem. u. Pharm. 60. 1. 153. 1.
37) — Chem. Briefe 1865. 21. Brief.
38) Loew, Pflüg. Arch. 22. 503 (1880). (Natur der F.).
39) — Pflüg. Arch. 27. 203 (1882). (Natur der F.).
40) — Science. 1899. 955.
41) Macfadyen, Journ. of anat. and phys. 26. 409. (1892). (Nat. d. F.).
9) A. Mayer, Enzymologie. Heidelberg 1882. Gährungschemie. ibid. 1895.
42) Medwedew, Pflüg. Arch. 65. 249 (1897). (Nat. d. F).
43) Moraczewski, Pflüg. Arch. 69. 32. (1898). (Nat. d. F.).
44) Naegeli, Theorie der Gährung. München 1879.
45) Pekelharing, Z. phys. Ch. 22. (1896/97).
46) Sacharoff, C. f. Bacter. 24. 661. (1898).
47) Schönbein, J. pr. Ch. 89. 334 ($H_2 O_2$).
48) Schützenberger, Die Gährungserscheinungen. Internat. wiss. Bibl. 1875.
49) Stohmann, Z. f. Biol. 31. 385.
50) Tizzoni und Cattani, Arch. ital. d. Biolog. XIV. 105 (F. u. Toxine).
51) Traube, Gesammelte Abhandl. Berlin 1899.
52) Walther, Pflüg. Arch. 48. 529 (Ficks Labversuch).
53) Wolffhügel, Pflüg. Arch. VII. 188 (Dialyse).

3) Wirkungsweise der Fermente und Beeinflussung durch äussere Factoren.[1]

54) Albertoni, Centralb. med. Wiss. 1878. No. 36 (Blutgerinnung).
55) d'Arsonval, C. R. soc. biol. 44. 808 (1892) (Kälte).
56) Arthus und Huber, Arch. d. physiol. (5) IV. 651 (1892) (Fluornatrium).
57) Baum, Ueber Antagonismus. Diss. Rostock 1892.
58) Béchamps, Compt. rend. 75. 337.
59) Bert, Compt. rendus 80. 1579 (comprim. O.).
60) Biernacki, Z. f. Biol. 28. 62.
61) Bouchardat, Ann. Chim. Phys. (3) XIV. 61 (ätherische Oele).
62) Buchner, Arch. f. klin. Med. 29. 537 (Alcohol).
63) Camus und Gley, C. R. Soc. Biol. 49. 825 (1897) (Serum).
64) Chabrié, C. R. Soc. Biol. 1898. 105.
65) Chittenden und Ely, Journ. of physiol. III. 327 (Peptone).

1) Hier sind nur diejenigen Arbeiten aufgeführt, die nicht blos die Beeinflussung eines einzelnen Fermentes betreffen.

66) Chittenden und Griswold, Americ. Chem. J. III. (1882).
67) — und Stewart, Maly's Jb. XX. 248 (1890).
68) Dastre, C. R. soc. biol. 1897. 469.
69) Detmer, Z. phys. Ch. VII. 1 (1882).
70) Dumas, C. R. 75. 295 (Borax).
71) Ebstein und Schulze, Virch. Arch. 134. 475.
72) Falk, Du Bois Arch. f. Physiol. 1882. 187.
73) Fermi und Pernossi, Z. f. Hygiene XVIII. 83 (1894).
74) Fiechter, Ueb. d. Wirkg. d. Blausäure. Diss. Basel 1875.
75) E. Fischer, Z. phys. Ch. 26. 75 (1898) (Toluol).
76) Gley und Camus, A. d. phys. 1897. 764 (Blutserum).
77) Green, Philos. Transact. 188. 167 (1897) (Sonnenlicht).
78) Hahn, Berl. klin. Woch. 1897. 499 (Blutserum).
79) Hüfner, Journ. f. pract. Ch. N. F. V. 372 (Trock. Erhitzen).
80) Kolbe, J. pract. Ch. N. F. X, XI, XII (Salicylsäure).
81) Kübel, Pflüg. Arch. 76. 276 (1898) (Salze).
82/83) Langley, Journ. of physiology III. 246 IV. 18 (Schicksale d. F. im Organ.).
84) Lewin, Centralbl. med. Wiss. 1875. 324 (Thymol).
85) Loew, Journ. f. pract. Chemie N. F. XI. 372 (1875) (Katalyse).
86) Loew, Chem. Ber. 24. 2947 (1891) (Azoimid).
87) Mayer, Z. f. Biol. XVII. 351 (1881) (Wärme).
88) Mays, Unters. phys. Inst. Heidelb. III. 378.
89) Moritz und Glendinning, Journ. of chem. soc. 61. 689 (1892) (Diastase).
90) *Mrotschkowsky, Ueb. unorg. Fermente. Diss. Petersb. 1891.
91) Müller, J. pr. Ch. N. F. X. 444 (Salicylsäure).
92) Müller-Thurgau, Landw. Jahrb. 1885. 795 (Invertase).
93) Müntz, C. R. 80. 1250 (1875) (Chloroform).
94) Nasse, Pflüg. Arch. XI. 145 (1875) (Salze).
95) — Maly's Jahrb. 1892. 584 (Antagonismus).
96) — Maly's Jahrb. 1894. 718 (Leitfähigkeit).
97) Paschutin, Müller - Reicherts Arch. 1871.
98) Pavy, Journ. of physiol. 22. 391 (1898) (Fluornatrium).
99) Plugge, Pflüg. Arch. V. 549 (Phenol).
100) Pugliese, Pflüg. Arch. 69. 115 (1898) (Chloroform).
— und Coggi, Malys Jb. 1897. 832 (Serum).
101) Röden, MalysJb. 1887. 160 (Serum).
102) Salkowski, Virch. A. 70. 158 (trock. Erhitzen).
103) — Deutsch. med. Woch. 1888. 16. (Chloroform).
104) Salvioli, Centralbl. med. Wiss. 1885. 913 (Blutgerinnung).
105) Schäffer und Böhm, Sitzb. d. Würzb. Phys. Med. Soc. N. F. III. 238 (Arsen).
106) Schierbeck, Scand. A. f. Phys. III. 344 (Kohlensäure).
107) Schlesinger, Virch. A. 125. 340 (Thymol).
108) Schultz-Schulzenstein, Z. phys. Ch. XVIII. 131 (Kaffee, Thee).
109) Szumowski, Arch. d. phys. 1898. 160 (Bindg. an Fibrin).
110) Tappeiner, A. exp. Path. 27. 108 (1890) (Fluornatrium).
111) Treyer, Arch. de physiol. 1898. 672.
112) Wassilieff, Z. ph. Ch. VI. 112 (1882) (Calomel).
113) Watson, Journ. Chem. Soc. 35. 539 (1879) (Alcohol).
114) Wróblewski, Chem. B. 28. 1719 (1895) (Rhodankalium).
115) *Zapolski, Hoppe-Seylers med. chem. Unters. IV (Phenol).

4) Physiologische Wirksamkeit der Fermente.

116) Albertoni, Maly's Jb. VIII. 127.
117) Béchamps und Baltus, C. R. **90**. 373. 539 (1880.)
118) Bergmann und Angerer, Festschrift z. 500j. Bestehen d. Univ. Würzb. 1882. 137.
119) Fermi, Arch. für Hygiene. XII. 238. XVI. 385 (1894).
120) id. Maly's Jb. 1897. 828.
121) Hildebrandt, Virch. Arch. **121**. 1 (1890).
122) id. Virch. Arch. **131**. 5 (1893).
123) Kionka, Deutsch. med. Woch. 1896. 612.
124) Kussmaul, Arch. f. klin. Med. XIV. 1874.
125) Lépine, C. R. **113**. 1014 (1891).
126) Mendelson, Virch. Arch. **100**. 291 (1885).
127) Roussy, Deutsch. med. Woch. 1889. 874.

5) Vorkommen der Fermente. [1])

a) Im Harn.

128) Béchamps, C. R. **60**. 445.
129) Bendersky, Virch. Arch. **121**. 554.
130) Breusing, Virch. Arch. **107**. 186 (1887).
131) Dastre und Floresco, C. R. Soc. Biol. **1897**. 849.
132) Gehrig, Pflüg. Arch. **38**. 35 (1886).
133) Grützner, Breslauer ärztl. Zeitschrift. 1882. 17.
134) Hoffmann, Pflüg. Arch. **41**. 148 (1887).
135) Holovtschiner, Virch. Arch. **104**. 42 (1886).
136) Leo, Pflüg. Arch. **37**. 226. **39**. 246.
137) *My a und Belfanti, Gazeta degli Ospitali. 1886. 3.
138) Sahli, Pflüg. Arch. **36**. 209.
139) Schnappauf, Physiol. Wirkung d. Pepsins. Diss. Rostock 1888.
140) Stadelmann, Z. f. Biol. **24**. 266.
141) Tasulli, Maly's Jb. 1894. 289.

b) In anderen Säften und Organen.

142) Béchamps, C. R. **96**. 1508.
143) Bernard, Leç. s. l. diabète. Paris 1887.
144) Bial, Pflüg. Arch. **52**. 137.
145) Bourquelot, C. R. **97**. 1000 (1883). Brown u. Heron, Lieb. Ann. **204**. 228.
146) Dastre, Arch. d. Physiol. **1890**. 103.
147) Dobroslawin, Unters. phys. Inst. Graz **1870**. 68. (Darmsaft).
148) Duclaux, C. R. **94**. 976 (1882).
149) Escherich, Arch. f. klin. Med. **37**. 196 (1885). (Sputum).
150) Filehne, Sitzb. Erlanger Phys. Med. Soc. **1887**. 169. (Sputum).
151) Fischer und Niebel, Berl. Akad. 1896. V. (S. A).
152) Fubini, Arch. ital. d. Biol. XIV. 436 (1891). (Emulsin).
153) *Gaube, C. R. soc. biol. **1891**. 115 (Speichel).
154) Gérard, C. R. soc. biol. **48**. 44 (1896). (Darmsaft).
155) Grünert, Ctbl. f. Physiol. V. 285. (Darmsaft).
156) Gumilewski, Pflüg. Arch. **39**. 564. (Darmsaft).

1) Es werden hier i. A. nur die Arbeiten angeführt, bei denen mehrere Fermente gleichzeitig auf ihr Vorkommen untersucht worden sind, um Wiederholungen zu vermeiden. Das Vorkommen einzelner Fermente ist natürlich bei diesen einzusehen; besonders das Vorkommen in den normalen Bildungsstätten der Fermente.

157) Hamburger, Pflüg. Arch. 60. 545. (Blut).
158) Jacobson, de sachari formatione. Diss. Regimonti 1865. (Galle).
159) v. Jaksch, Z. phys. Ch. XII (Koth).
160) Köbner, Z. f. Biol. 33. 404 (1896).
161) Krüger, ibid. 37. 229 (1899). (Darm).
162) Mac Gillawry, Arch. néerland. XI. 394 (1876). (Cytase).
163) Miura, Z. f. Biol. 32. 277 (1895). (Darm).
164) *Morriggia und Ossi, Atti acad. Lincei 1875. (Emulsin).
165) *Munk, Verh. physiol. Ges. Berlin 24./XI. 1876. (Speichel).
166) Nencki, A. f. exp. Path. 20. 376. (Histozym).
167) Pautz und Vogel, Z. f. Biol. 32. 304 (1895).
168/70) Poehl, Ueb. d. Vork. d. Peptone ausserh. d. Verd.-App. Diss. Dorpat 1882. Biol. Ctbl. III. 252. Chem. B. XIV. 1355.
171) Portier, C. R. Soc. Biol. 50. 387. (1898) (Lactase).
172) Pregl, Pflüg. Arch. 61. 359 (Darm).
173/74) Röhmann, Pflüg. Arch. 41. 424 (Blut). Chem. B. 27. 3252.
175) — und Lappe, Chem. B. 28. 2506 (1895). (Darm).
176) *Robertson, Edinburgh. Med. Journ. 1894.
177) Staedeler, J. pract. Ch. 72. 250 (1857). (Speichel).
178) Weinland, Z. f. Biol. 38. 606 (1899). (Darm).

c) In Embryonen und Eiern.

179) Albertoni, Maly's Jb. VIII. 254.
180) Dahl, Diss. Dorpat 1890. C. f. Phys. 1891. 309.
181) Fermi, Maly's Jb. 1894. 289.
182) *Gayon, Thèse. Paris 1875.
183) Korowin, C. med. Wiss. 1873. 261. 305 (Neugeborenen).
184) Langendorff, Du Bois Arch. f. Physiol. 1879. 95.
185) J. Müller, Münch. med. Woch. 1899. 1583 (Hühnerei).
186) Zweifel, Unters. üb. d. Verd.-App. d. Neugeborn. Berlin 1874.

d) In niederen Thieren.

187) Basch, Sitzb. d. Wien. Acad. 33. 255 (1858).
188) Biedermann, Pflüg. Arch. 72. 160. 73. 219 (1898).
189) Erlenmeyer, Münch. Acad. 1874. II. 205.
190) Homburger, C. med. Wiss. 1877. 561.
191) Hoppe-Seyler, Pflüg. Arch. XIV. 394.
192) Krukenberg, Unters. physiol. Inst. Heidelb. II. 1882.
193) Richet, Arch. d. physiol. X. 536. (1882). (Fische).

e) Fermente in höheren Pflanzen.

(P = Proteolyt., D = diastat. F., I = insectivore Pflanzen.)

194/195) Brasse, C. R. 99. 878. 100. 454 (D).
196) Brown u. Heron, Journ. Chem. Soc. 35. 609 (1879) (D).
197/98) — u. Morris, ibid. 57. 507 (1890). 63. 604 (1893) (D).
199) Bouchut, C. R. 91. 67 (1880) (P).
200/1) Canby, Österreich. bot. Ztsch. XIX. 77. XXV. 287 (I).
202) Chittenden, J. of physiol. XV. 249 (P).
203) Cohn, Beitr. z. Biol. d. Pflanzen I. 3. S. 71 (1875) (I).
204) Darwin, Insectivorous Plants. II. Aufl. 1875.
205) Dubois, C. R. 111. 315 (1890) (I).
189) Erlenmeyer, Sitzb. Münch. Acad. 1874. II. 204.
206) Fermi u. Buscaglioni, C. f. Bact. (II) V. 125 (1899).
207) Girard, Ann. chim. Phys. (6) III. 289 (1884).
208) Goebel, Pflanzenbiol. Schilderg. II (1893).
209) Gonnermann, Chemiker-Ztg. 1895. 1806 (D).
210/12) v. Gorup-Besanez, Sitzb. d.

Erlanger Phys. Med. Soc. **1874** (8. XI). — Chem. B. VII. 146. 569. 1478. VIII. 1510. IX. 673 (1876).
213/14) Green, Ann. of botany VI. 195. VII. 112 (1893).
215) — Proceed. Royal Soc. **48**. 370.
216) — Philosoph. Transact. **178**. 39 (1887).
25) Hansen, Arb. bot. Inst. Würzb. III. 281.
217) van der Harst, Naturforscher XI. 108 (1878) (P).
218) Hooker, Nature X. 366. (I).
219) *Kjeldahl, Resum. Carlsberg. Labor. I (1879) (D).
220) Kossmann, C. R. **81**. 406.
221/22) Krauch, Landwirtsch. Versuchstat. **23**. 77 (1879). **1882**. 303.
223) Lea, Proc. Royal Soc. **36**. 55 (1884).
224) Marloth, Nature. **1888**. 275.
225) Mayer, Chem. Centralbl. **1900**. I. 824. (D).
226) Morren, Bull. Acad. d. scienc. d. Belg. **39**. **40**. **42**. (I).
227) Neumeister, Z. f. Biol. XXX. (P).
228/30) Payen u. Persoz, Ann. chim. phys. (II) **53**. 73. **56**. 337. **60**. 441.
231) Pfeffer, Landw. Jahrb. VI. 969 (1877) (P).
232) Piria, Ann. Chim. Phys. (3) **22**. 160.
169) Poehl, Biol. Ctbl. III. 525.
233/34) Rees u. Will, Bot. Ztg. **1875**. Sitzb. Erlanger Ph. M. S. VIII. 13. (1875) (I).
235) Scheurer-Kestner, C. R. **90**. 369 (P).
236/39) Schulze, Landw. Jahrb. V. 821. VI. 681. VII. 411. IX. 659 (P).
240) O'Sullivan, Proceed. Chem. Soc. XVI. 61. (1900) (D).
241) Tait, Nature XII. 251 (1875) (I).
242) *Tichutkin, Botan. Ctbl. **50**. 304 (1892) (I).
243) van Tieghem, Bull. soc. bot. d. France **33**. 216 (1886) (D).
244) Vines, Journ. of anat. and phys. XI. 124 (P).
245) — Ann. of bot. XI. 563 (1897). (P).
246) Wittmack, Verh. d. V. deutsch. Nat. u. Aerzte **1879**. 222. (P).
247) Wortmann, Z. phys. Ch. VI. 324 (1883).
248) — Bot. Ztg. **48**. Nr. 37 ff.

f) Fermente in Microorganismen.

(D = Diastase, I = Invertase u. Maltase, P = Proteolyt., F = Fettspaltende).

249) Auerbach, C. f. Bact. (2) IV (1898).
250) de Bary, Vorlesg. üb. Bacterien. Leipzig 1885.
251) Béchamps, C. R. **46**. 44 (1858).
252) Biffen, Ann. of botany XIII. 336 (1899) (F).
253) Bitter, Arch. f. Hyg. V. 245 (1886) (P).
254) Borzi, Botan. Ctbl. **24**. 14 (1885) (F).
255) Bourquelot, C. R. soc. biol. **1893**. 653. 804.
256) — Journ. pharm. et chim. 1895. (S. A.)
257/58) — Bull. Soc. Mycolog. d. France IX. 64. 189. 230 (1893). (S. A.) X. 235.
259/60) — u. Hérissey, C. R. **1895**. 693. **127**. 666 (1898).
261) — — Bull. soc. mycol. XV. 1899. (S. A.)
262) Brunton u. Macfadyen, Proc. Royal Soc. **46**. 542 (1890) (P).
263) Calmette, Ann. Inst. Past. VI. 604 (1892) (Amylomyces).
264) Camus, C. r. Soc. Biol. **49**. 192. 230.
265) Conn, C. f. Bact. XII. 223.
266) Dienert, C. R. **129**. 63. 81 (1899).
267) Duclaux, C. R. **91**.
268/69) Fermi, Arch. f. Hyg. XIV. 1. C. f. Bact. XII. 713 (P).
270/71) — u. Montisano, Apothek.-Ztg. IV (1894) 583. C. f. Bact. (II) I. 482. 542 (1895).
272) — u. Pampersi, Maly's Jb. **1897**. 827.
273) Fernbach, Ann. Inst. Past. IV. 1 (1890) (I).

274) Fischer u. Lindner, Chem. B. **28**. 3037 (1895).
275) Fitz, Chem. Ber. VI. 48. IX. 1352 (Mucor).
276) Fokker, D. medic. Woch. **1892**. 1151.
277) Gayon, C. R. **86**. 52 (1878) (I).
278) — u. Dubourg, Ann. Past. I. 532 (1886).
279) Gérard, C. R. soc. biol. **1893**. 653. 804.
280) — Journ. pharm. chim. (6) III. 233 (1896).
281) — C. R. **124**. 370 (1897).
282) Geret u. Hahn, Chem. Ber. **31**. 202. 2335 (1898) (P).
283) Gorini, Hyg. Rdsch. **1893**. 381.
284) Hahn, Chem. B. **31**. 200 (1898).
285) Hartig, Zersetz. Ersch. d. Holzes. Berlin 1878.
286) — Der echte Hausschwamm. ibid. 1885.
287) Hérissey, C. R. soc. biol. **1896**. 515.
288) Hjort, C. f. Phys. X. 192 (1896) (P).
289) Hueppe, D. med. Woch. **1884**. 777 (P).
290) Kalanthar, Z. phys. Ch. **26**. 89 (1898) (I).
291) Kalischer, Arch. f. Hyg. **37**. 30.
292) Kellner, Mori u. Nagaoka, Z. phys. Ch. XIV. 297 (I).
293) Kossmann, Bull. soc. chim. **27**. 251 (1877) (I).
294) Laborde, Ann. Inst. Past. XI. 1 (1897) (Eurotiopsis).
295) Liborius, Z. f. Hyg. I. 115.
296) Macfadyen, Journ. anat. and phys. **26**. 409 (1892) (P).
297) Malfitano, Ann. Inst. Past. XIV. 60 (1900).
298) Naegeli, Die niederen Pilze. München 1882.
299) Perdrix, Ann. Inst. Past. V. 287 (D).
300) Pick, Wien. klin. Woch. 1889. 89 (P).
301) Salkowski, Z. klin. Med. XVII. Suppl.
302) — Z. phys. Ch. XIII. 506.
303) Wasserzug, Ann. Inst. Past. I. 525 (1886) (I).
304) *Wood, Labor. Report Royal College of Physic. Edinburgh. II.

6) Verdauung und proteolytische Fermente im Allgemeinen.

305) Babcock u. Russell, Chem. Centralbl. 1900. I. 430 („Galactase").
306) Bidder u. Schmidt, Die Verdauungssäfte. Leipzig u. Mitau 1852.
307/8) H. Buchner, Münch. med. W. **1899**. Nr. 39. 40. **1900**. S. 277 (Alexine).
309) Ehrlich u. Morgenroth, B. klin. Woch. 1899. 2. 22 (Hämolyse).
310) Fermi, Arch. ital. d. Biolog. 1895. 433.
311) — Centralbl. f. Phys. VIII. 657. IX. 37 (1895).
312) Hahn u. Geret, Chem. Ber. **31**. 2335 (1898) (Presssäfte).
313) Réaumur, Mém. de l'acad. d. sciences **1752**. 461.
314) Rosenberg, Pflüg. Arch. **70**. 371 (Bedeutg. d. Pancreas).
315) Spallanzani, Versuche üb. d. Verdauungsgesch. übers. v. Michaelis. Leipzig 1785.
316) Schiff, Leç. d. phys. d. la digestion. Berlin 1867.
317) Tiedemann u. Gmelin, Verd. n. Versuchen. Heidelb. 1826.

7) Speciallitteratur über Pepsin.

a) Historisches, Darstellung und Eigenschaften.

318) Béchamps, C. R. 94. 582. 879. 970 (1882) (Microzymata).
319) Chapoteaut, C.R. 94. 1722 (1882) (Zymogen).
320) Eberle, Physiologie der Verdauung. Würzburg 1834.
321) Fick, Verh. d. Würzb. Phys. med. Soc. 1873. 121.
322) Finkler, Pflüg. Arch. XIV. 128 (Isopepsin).
323) Gautier, C. R. 94. 652 (1882) (Microzymata).
324) *Gerson, De Chymificatione artefíciali. Diss. Berol. 1835.
325) Klug, Pflüg. Arch. 60. 43 (1895).
326) Konowaloff, Maly's Jb. 1894. 289 (Handelspepsin).
327) Langley u. Edkins, Journ. of physiol. VII. 371 (Zymogen).
328) Lehmann, Ber. d. sächs. Ges. d. Wiss. 1849. 10.
329) Maly, Pflüg. Arch. IX. 592.
330) J. Müller u. Schwann, Müllers Arch. 1836. 66.
331) Pekelharing, Z. phys. Ch. 22. (1896/97).
332) Podwissotzki, Pflüg. Arch. 39. 62.
333) Roth, Z. klin. Med. 39. 1 (1900).
334) Schoumow-Simanowski, Arch. f. exp. Path. 33. 336.
335) Schwann, Müllers Arch. 1836. 90.
336) Sundberg, Z. ph. Ch. IX. 319.
337) *Venturini u. Cotta, Bollet. Chim. Farm. 39 (Handelspepsin).
338) Wasmann, De digestione animali. Diss. Berlin 1839.
339) Wenz, Z. f. Biol. 22. 1.
340) Wróblewski, Z. phys. Ch. 21 (1895).

b) Wirkungsweise u. Beeinflussung.

341) Bertels, Virch. A. 130. 497. (Chlorof.).
342) Biernacki, Z. f. Biol. 28. 62.
343) Brieger, Z. f. phys. Ch. VII. 274.
344) — Ptomaïne 1885. S. 14.
345) Brücke, Wien. Acad. 37. 131.
346) Buchner, Arch. f. klin. Med. 29. 537 (Alcohol).
347) E. Buchner, Chem. B. 30. 1110 (1897) (Rohrzucker).
348) Charrin, Arch. d. phys. (5) X. 65.
349/50) Chittenden, Maly's Jb. 15. 277. 20. 248.
351) Croner, Virch. Arch. 150. 260.
352) Davidson u. Dieterich, Müllers Arch. f. Phys. 1860. 690.
353) Dubs, Virch. A. 134. 519.
354) Ellenberger u. Hofmeister, A. f. wiss. u. pract. Thierheilk. IX. 185.
355) Fermi u. Pernossi, Z. f. Hyg. XVI. 385 (1894).
356) Fraser, Journ. of anat. and physiol. 31. 469.
357) *Gamaleïa, C. R. soc. biolog. 44. 153 (1892).
358) Grünhagen, Pflüg. A. V. 203 (Quant. Bestimmg.)
359) Grützner, Pflüg. A. VIII. 452 (Quant. Bestimmg.).
360) Gürber, Verh. d. Würzb. Phys.-Med. G. 1895. 67 (Amidosäuren).
361) Hoffmann, Centralbl. f. klin. Med. 1891. 793 (Amidosäuren).
362) Hehner, The Analyst. XVI. 126 (1891) (Borsäure).
363) Herzen, Annali di chim. e farmac. VIII. 304 (1888).
364) Klug, Pflüg. Arch. 60. 43.
365) Klug jun., Pflüg. Arch. 65. 330.
366) Kühne, Verhandl. nat. hist. med. Verein Heidelberg 1877. 193.
367) Mann, Diss. Erlangen 1897.
368) Mees, Maly's Jahrber. 1885. 269.
369) *Mett, Diss. Petersburg 1889.
370) *Mette, Arch. d. sciences biol. 1894. I. 142.
371) Nékám, Maly's Jahrber. XX. 250.

372) Rosenheim, Centr. Klin. Med. 1891. 729.
373) Salkowski, Virchows Arch. 124. 409.
374) — Virchows Arch. 127. 501.
375) — Centr. Med. Wiss. 1891. 945.
376) A. Schmidt, Pflüg. Arch. XIII. 93.
377) C. Schmidt, Liebigs Ann. 61. 311.
378) Schütz, Z. f. Phys. Chem. IX. 577.
379/80) Stutzer, Landw. Vers. Stat. 38. 63. 257 (1891).
381) Wolberg, Pflüg. Arch. XXII. 291 (1880).
382) Wróblewsky, Z. f. Phys. Chem. XXI. 1.
383) — Chem. Ber. 28. 1719 (1895).

c. Secretion des Pepsins.

384) Åkermann, Scandin. Arch. f. Physiol. V. 134 (1895).
385) Brunn und Ebstein, Pflüg. Arch. III. 565.
386) Contejean, Arch. d. physiol. (V) IV. 554.
387) Donders, Physiologie 1856. S. 208.
388) Ebstein, Arch. f. mikr. Anat. VI. 515.
389—92) Ebstein und Grützner, Pflüg. Arch. VI. 1. VIII. 122. 617. XVI. 105.
393) Edinger, A. f. mikrosk. Anat. XIII. 651.
394) Fick, Verh. d. Würzb. Phys. med. Soc. N. F. II. 121 (1872).
395) Fränkel, Pflüg. Arch. 48. 63.
396) Friedinger, Sitzb. d. Wien. Acad. 1871. 325.
397) Heidenhain, A. f. mikr. Anat. VI. 368.
398) — Pflüg. Arch. XVIII. 169.
399) Klemensiewicz, Sitzb. d. Wien. Acad. 71 (III) 249.
400) Nussbaum, Arch. f. mikr. Anat. XIII. 721. XV. 119. XVI. 532.
401) Partsch, A. f. mikr. Anat. XIV. 195.
402) Sewall, Journ. of physiol. I. 321.
403) v. Swiecicki, Pflüg. Arch. XIII. 444 (1876).
404/8 v. Wittich, Pflüg. Arch. II. 193. III. 339. V. 435. VII. 18. VIII. 44.
409) Wolffhügel, Pflüg. Arch. VII. 188.

8) Speciallitteratur über Trypsin.

410) Biondi, Virch. A. 144. 373. (1896) (Selbstverdg. d. Org.).
411) Blank b. Nencki, Arch. f. exper. Path. XX. 377 (Trypsinspaltg).
412) Chittenden und Cummins, Maly's Jb. 1885.
413) Corvisart, Sur une fonction peu connue du Pancréas. Paris 1857.
414) Danilewski, Virch. Arch. 25. 267 (1862).
415) Edkins, Journ. of physiol. XII. 193 (Metacaseïn).
416) Ewald, Z. klin. Med. I. 615 (H Cl).
417) Fermi, Maly's Jb. 1892. 592 (Nachweis).
418) Gulewitsch, Z. ph. Ch. 27. 540 (1899).
419) Halliburton und Brodie, J. of physiol. XX. 97 (Metacaseïn).
420) Harris und Gow, Journ. of physiol. XIII. 469 (Darstellg.)
421) Heidenhain, Pflüg. A. X. 557 (Zymogen).
422) Herzen, C. med. Wiss. 1877. 435.
363) — Ann. chim. farm. VIII. 302 (1888).
423) Kühne, Virch. Arch. 39. 130 (1867).
424/26) — Verh. nat. hist. med. V. Heidelb. N. F. I, II, III (1876 bis 80).
427) Lindberger, Maly's Jb. XIII. 280 (1883).
428) Paschutin, Müller-Reicherts A. 1873. 382.
429) Podolinski, Beitr. z. Kenntn. d.

pancr. Eiweissverdauung. Diss. Breslau 1876.
430) Raschford und Southgate, Maly's Jb. 1896. 392.
431) *Roberts, On digestive Ferment. Lumleian Lecture. London 1880.
432) — Proceed. Royal Soc. 32. 145.
433) Salkowski, Medic. Centralbl. 1876. 29.
434) — Virch. Arch. 70. 158.
302) Z. f. ph. Ch. XIII (Selbstverdg.).
301) Z. f. klin. Med. XVII. Suppl. (Selbstverdg.).
435) Schwiening, Virch. Arch. 136 (1894) (Selbstverdg.).

9) Litteratur über den Abbau der Eiweisskörper.

436) Alexander, Z. phys. Ch. 25. 411.
437) Balke, Z. phys. Ch. 22. 248 (Antipepton).
438) Baumann und Bömer, Z. f. Unt. von Nahrungs- u. Genussm. I. 106 (1898) (Zinksulfat).
439) Beitler, Chem. Ber. 31. 1604 (Tryptophan).
440) Bernard, C. R. 1856. I. Suppl. 403 (Tryptophan).
441) Biffi, Virch. Arch. 152. 310.
442) Bokay, Z. phys. Ch. I. 157 (Nucleïne).
443) Chittenden und Goodwin, Journ. of Physiol. XII. 34 (1891).
443) — — Hart, Z. f. Biol. 25. 368 (1889).
444) — — Hartwell, J. of Phys. XI. 435. XII. 12.
445) — — Mendel, ibid. XVII. 48 (1895).
446/7) — — Painter, Maly's Jb. XVII. 16. XX. 17 (1890).
448) Cohn, Z. phys. Ch. XX. 203.
449) Drechsel, Du Bois A. f. Phys. 1891. 248.
450) — Chem. Ber. 25. 2454 (1892).
450/1) Ellinger, Chem. B. 31. 3183. 32 (1899) (Hexonbasen).
452) Erlenmeyer und Lipp, Chem. B. XV. 1544 (Tyrosin).
453) Etzinger, Z. f. Biol. X. 84 (Glutin).
454) Fano, Du Bois Arch. 1881. 277 (Peptone).
455) E. Fischer, Chem. B. 32. 2451 (Tyrosin etc.).
456) Fränkel, Wien. med. Blätter 1896. 708 (Antipepton).
457) v. Gerlach, Die Peptone. Hamburg 1891.
458) B. Gmelin, Beitr. z. Kenntn. d. Leucins. Diss. Tübingen 1892.
459) Gulewitsch, Z. phys. Ch. 27. 178. 368 (Arginin).
460) Hamburger, Maly's Jb. XVI. 20.
461) Hasebroek, Z. phys. Ch. XI. 348.
462) Hedin, Du Bois Arch. 1891. 273.
463/5) — Z. phys. Ch. XX. 186. XXI. 155. XXII. 191.
466) Hemala, Krukenbergs Unt. z. wiss. Med. II. 119 (1889) (Tryptophan).
467) Henninger, Compt. rend. 86. 1413. 1464.
468) Herrmann, Z. phys. Ch. XI. 508.
469) Herth, ibid. V. 277.
470) Hirschler, ibid. X. 302.
471/2) Hlasiwetz und Habermann, Lieb. Ann. 159. 304. 169. 150.
473) Horbaczewski, Z. phys. Ch. VI. 330.
474) Hüfner, J. pract. Ch. (2). I. 6.
475) Klug, Z. phys. Ch. IV. 189 (Glutin).
476) v. Knieriem, Z. f. Biol. XI. 198.
477/8) Kossel, Z. phys. Ch. 22. 170. 184. 26. 586.
479) — und Kutscher, ibid. 28. 382 (Histidin).
480) — und Matthews, ibid. 25. 190 (Protamine).
481) Kühne, Chem. Ber. VIII. 206 (1875).

482) — Unters. physiol. Inst. Heidelb. I. 222. 317 (1878).
483/84) — Verh. d. nat. hist. med. V. Heidelb. N. F. I. 194. III. 463.
485/6) — Zeitschr. f. Biol. XIX. 209. **29.** 1 (1893).
487/90) — und Chittenden, Z. f. Biol. XIX. 159. XX. 11. XXII. 409. XXV. 358.
491) Kutscher, Die Endproducte der Trypsinverdg. H. S. Strassburg 1899.
492/94) — Z. phys. Ch. **25.** 195. **26.** 110. **28.** 123.
495) Kurajeff, ibid. **26.** 501 (Tryptophan).
496) Lawrow, ibid. **26.** 513.
497) Meissner, Z. ration. Medicin (3), VII, VIII, XI, XIV.
498) v. Moraczewski, Z. phys. Ch. XX. 28.
499) Morochowetz, St. Petersburg med. Woch. 1886. No. 15.
500) — Maly's Jb. XVI. 271 (1886).
501) Nencki, Journ. pract. Ch. (2). XV. 390.
502) — Chem. Ber. **28.** 560.
503) Neumeister, Z. f. Biol. **23.** 381. **26.** 329.
504) Otto, Z. phys. Ch. VIII. 129.
505/6) Pick, ibid. **24.** 246. **28.** 219.
507) Pollitzer, Nat. hist. Med. V. Heidelberg. N. F. III. 293.
508) — Journ. of Physiol. VII. 283.
509) Radziejewski, Virch. A. **36.** 1.
510) — und Salkowski, Chem. Ber. VII. 1050 (1874).
511) Ritthausen und Kreussler, J. pract. Ch. (2). III. 314.
512/3) Röhmann, Chem. Ber. **30.** 1978. **31.** 2188.
514) Salkowski, C. med. Wiss. **1893.** 385.
515) Salomon, Du Bois Arch. **1881.** 361.
516) Schmidt-Mülheim, ibid. **1880.** 50.
517) E. Schulze und Likiernik, Chem. Ber. **24.** 669. 2701.
518) — und Steiger, ibid. XIX. 1177.
519) — — — Z. phys. Ch. XI. 43.
520/1) — und Winterstein, ibid. **23.** 1. **28.** 459.
522/3) — — — Chem. Ber. **30.** 2879. **32.** 3191.
524) Schützenberger, Bull. d. la soc. de Paris. **23. 24.**
526) Schwarz, Cohns Beitr. z. Biol. d. Pflanzen. V. 73 (Chlorophyll).
527) Sebelien, Chem. Centralbl. 1890. I. 170.
528) Siegfried, Du Bois Arch. **1891.** 401.
529) — Z. phys. Ch. **21.** 360.
530) Spiro, Z. phys. Ch. **28.** 174.
531) Stadelmann, Z. f. Biol. **24.** 226. **26.** 491.
532) Tatarinoff, C. med. Wiss. 1877. 275 (Glutin).
533) Thierfelder, Z. phys. Ch. X. 577.
534) Uffelmann, Arch. f. klin. Med. XX. 535.
535) Umber, Z. phys. Ch. **25.** 258.
536) Virchow, sein Arch. VII. 580 (Leucin).
537) Wenz, Z. f. Biol. **22.** 10 (1886).
538) Clara Willdenow, Beitr. z. K. d. pept. Verd. d. Caseïns. Diss. Bern 1893.
539) — Z. phys. Ch. **25.** 523 (Lysin).
540) Wróblewski, Beitr. z. K. d. Frauencaseïns. Diss. Bern 1894.
541) Zunz, Z. phys. Ch. **27.** 219. **28.** 132.

10) Papaïn.

542) Albrecht, Corr. Bl. f. Schweizer Aerzte. X. 680. 712.
543) Beckolt, Z. d. allg. österr. Apoth. Ver. XVII. 361. 373. Pharmac. Journal (3). X. 342. 383.

544) *Brunton und Wyatt, Practitioner. 1880. 301.
545) Chittenden, Amer. Journ. of Medical Science. 1893. 452.
546) — Americ. Journ. of Physiol. I. 634 (1898).
547) Grote, Deutsch. med. Woch. 1896. 474.
548) Harlay, Journ. de Pharm. et Chim. (6). XI. 268 (1900).
549) Hirsch, Therap. Monatsh. 1894. 609.
550) *Hirschler, Ungar. Arch. f. Med. I. 341.
551) Martin, Journ. of Physiol. V. 313 (1884). VI. 336.
552) — Brit. med. Journ. 1885. 50.
553) *Moncorvo, Journ. de Thérapie. VII. 6 (1880).
554) Munk, Therapeut. Monatsh. 1888. 276.
555) Osswald, Münch. med. Woch. 1894. 665.
556) Rosenheim, Krankh. d. Speiser. u. d. Magens. 1891. 134.
557) Rossbach, Berl. Klin. Woch. 1881. 133.
558) — Zeitschr. f. Klin. Med. 1883. 527.
559) *Roy, Glasgow med. Journ. 1874.
560) Sittmann, Münch. med. Woch. 1893. 548.
561) Weeg, Ueb. Papaïn. Diss. Bonn 1885.
562) Wittmack, Sitz. B. d. Ges. naturf. Freunde. Berlin 1878. S. 40.
563) Wurtz, Compt. rend. 90. 1379 (1880). 91. 787.
564) — und Bouchut, ibid. 89. 425 (1879).

11) Labferment.

565) Arthus und Pagès, Arch. d. phys. (5). II. 330. 540 (1890).
566) Baginski, Z. ph. Ch. VII. 209 (1882).
567) Bang, Pflüg. Arch. 79. 425 (1900).
568) Benjamin, Virch. A. 145. 30 (1896).
569) Boas, Centralb. med. Wiss. 1887. 417.
570) — Z. klin. Med. XIV. 249 (1888).
571) Briot, C. R. 128. 1366 (1899).
572) Camus und Gley, C. R. 125. 256.
573) Courant, React. d. Kuh- und Frauenmilch. Diss. Breslau 1891.
574) Edmunds, Journ. of physiol. XIX. 466 (1895).
575) Erlenmeyer, Sitzb. Münch. Acad. 1875. 82.
576) Eugling, Landwirthsch. Vers.-Stat. 31. 391.
577) Freudenreich, C. f. Bact. (2). IV. 309 (1898).
578) Gley, C. R. soc. biol. 48. 591 (1896).
579/81) Hammarstén, Maly's Jb. II. 118 (1872). IV. 135. VII. 158 (1877).
582) — Z. phys. Ch. 22. 130 (1896/97).
583) Heintz, Journ. f. pract. Ch. (2). VI. 374 (1872).
584) de Jager, Maly's Jb. 27. 276. (1897).
585) Johannesson, Z. f. klin. Med. XVII. 204 (1890).
586) Johnson, ibid. XIV. 240 (1888).
587) Klemperer, ibid. XIV. 282.
588) Köster, Maly's Jb. XI. 14 (1881).
589) *Locke, Journ. of exp. Medecine. II. 493 (1897).
590) Lörcher, Pflüg. Arch. 69. 141 (1898).
591) Lundberg, Maly's Jb. VI. 11 (1876).
592) A. Mayer, Landw. Versuchsstat. 27. 247.
593) Morgenroth, C. f. Bact. 26. 349 (1899).
594) Peters, Ueb. d. Labferment. Diss. Rostock 1894.

595) Pfleiderer, Pflüg. Arch. 66. 605 (1897).
596) Raudnitz, Prag. med. Woch. 1887. 24.
597) Ringer, Journ. of physiol. XI. 464.
598) Rosetti, Chem. Centralbl. 1899. I. 131.
599) Schäffer, Maly's Jb. 1887. 158.
600) A. Schmidt, Beitr. z. Kenntn. d. Milch. Dorpat 1871.
601) Schumburg, Virch. Arch. 97. 260 (1884).
602) Selmi, Journ. d. pharm. et chim. (3). IX 265 (1846).
603) Söldner, Landw. Versuchstat. 35. 351.
604) Soxhlet, Journ. f. pract. Ch. (2). VI. 1 (1872).
605) Szydlawski, Prag. med. Woch. 1892. 365.

Anhang: Pectase.

606) Frémy, Journ. d. pharm. 26. 392.
607/9) Bertrand und Mallèvre, Compt. rend. 119. 1012. 120. 110. 121. 726.
S. a. Fermente in Kryptogamen (Bourquelot etc.).

12) Diastase.

610) Astaschewski, Centrbl. med. Wiss. 1877. 531 (Speichel).
611) Atkinson, Monit. scientif. 1882. 7 (Takad.).
612) Baranetzki, D. stärkeumbild. F. i. d. Pflanzen. Leipzig 1878.
613) Barth, Chem. B. XI. 474 (1878).
614) Beyerinck, C. f. Bact. (II). I. 221 (1895) (Zweienzymtheorie).
615) Bizio, C. R. 65. 175.
616/7) Bondonneau, C. R. 81. 972. 1210. Bull. Soc. Chim. 23. 98 (1875) (Dextrine).
618/9) Bouchardat und Sandras, C. R. XX. 143. 1008 (1843).
620) Bourquelot, C. R. 104. 71. 576.
621) Brown und Heron, Lieb. Ann. 199. 249 (1880).
622) — — Lieb. Ann. 204. 228.
623) — — Journ. Chem. Soc. 35. 596 (1879).
624/26) — und Millar, ibid. 75. 286. 311. 315 (1899).
627) — und Morris, ibid. 47. 527 (1885).
628/9) — — ibid. 55. 449. 462 (1889).
630/1) — — ibid. 67. 709. 69. 709 (1896).
632) — — Z. ges. Brauw. 1889. 437.
633) Brücke, Wien. Acad. 1872. III. 126 (Dextrine).
634) Büsgen, Ber. d. d. bot. Ges. III. S. LXVI (1885) (Takad.).
635) Cavazzani, C. f. Physiol. X. 145 (Cerebrospinalflüss.).
636/7) — Arch. ital. d. Biol. 28. 91. 32. 350 (1899) (Leberd.).
638) Chlodonnski und Šulc, Maly's Jb. 1896. 67 (Pancreasd.).
639) Cripps, Chem. Centralbl. 1890. I. 324.
640) Cohnheim, Virch. Arch. 28. 241 (1865) (Speicheld.).
641) Danilewski, ibid. 25. 279.
642) Detmer, Landwirtsch. Jahrb. X. 757 (1881).
643) — Z. phys. Ch. VII. 1 (1882).
644) Donath, Chem. Ber. VIII. 795 (1875).
645) *Dubrunfaut, Mem. sur la sacharific. Paris 1823. Ann. chim. phys. (3). 21. 178 (1847).
646) Dubrunfaut, Dinglers polyt. J. 187. 491 (1868).
647) — Z. ges. Brauw. 1880. 99.
648) Dufresne, C. R. 89. 1070.
649) *Duquesnel, Bull. de la soc. d. Thérap. 87. 20.
650) Effront, Bull. Soc. Chim. (3). IV. 627 (1890).
651/2) — C. R. 115. 1324 (1892) 120. 1281 (1895).
653) Eichhorst, Z. klin. Med. III. 537 (1881).
654) Ellenberger und Hofmeister,

Arch. f. wiss. u. pract. Thierheilk. VIII—XII.
655) Eves, J. of phys. V. 342 (Leberd.).
656) E. Fischer, Chem. B. 23. 3687. (1890) (Isomaltose).
657) *Frankhause, Der Bund. Bern 37. No. 26.
658) Gans, Verh. Congr. f. inn. Med. 1896. 449 (Glycogen).
659) Goldschmidt, Z. ph. Ch. X. 294 (1896) (Speichel).
660) Grober, Münch. med. Woch. 1900. 247 (Cerebrospinalfl.).
661) Grüss, Jahrb. f. wiss. Bot. 26. 379.
662) — Festsch. f. Schwendener. Berlin 1899. 184.
663) Guerin-Varry, Ann. Chim. Phys. (2). 36. 225.
664) Haberlandt, B. d. d. bot. Ges. VIII. 40.
665) Hammarstén, Virchow-Hirschs Jb. 1871. 95.
666) Heine, Fortschr. d. Med. XIII. 789 (Referat).
667) Hildebrandt, Berl. klin. Woch. 1892. 1.
668) Hirschfeld, Pflüg. Arch. 39. 409. Kellner, Mori und Nagaoka, Z. phys. Ch. XIV. 297.
669) Kirchhoff, Schweiggers Journ. f. Chem. XIV. 389 (1815).
670) Kjeldahl, Z. ges. Brauw. 1880. 186.
671) Krabbe, Jahrb. f. wiss. Bot. 21. 520 (1890).
672) Krauch, Landw. Versuchsstat. 23. 77.
673) Külz, Pflüg. Arch. 24. 81.
674) — und Vogel, Z. f. Biol. 31. 108.
675) Langley, Journ. of phys. I. 68. (s. a. III—IV).
676) Lannois und Lépine, Arch. d. physiol. 1883. 92.
677) Lea, Journ. of phys. XI. 234 (1890).
678) Leffmann und Beam, Analyst. XIII. 103 (1888).
679) Leo, Therap. Monatsh. X. 635 (Takadiast.).
680) Lépine, Sächs. Acad. Leipzig 1870. 322.
681) — Wien. med. Presse 1892 No. 26 ff.
682) — und Barral, C. R. 113. 1014.
683) *Leuchs, Kästners Archiv f. d. ges. Naturlehre. 1831 (Speichel).
684) Ling und Baker, Journ. Chem. Soc. 67. 702. 739.
685/6) Lintner, J. pract. Ch. (2). 34. 378. 36. 481 (1886/87).
687/9) — Z. ges. Brauw. 1891. 281. 1892. 6. 123. 1894. 414.
690/1) — und Düll, Z. f. angew. Ch. 1892. 263. Chem. Ber. 26. 2533 (1893).
692) Liversidge, Journ. anat. and phys. VIII. 23 (1874).
693) Maercker, Thiels Landw. Jahrb. 1877. Suppl. H. 286.
694) *A. Meyer, Unters. üb. d. Stärkekörner.
695) Mialhe, C. R. XX. 954.
696) Moritz und Glendinning, Journ. Chem. Soc. 61. 689 (1892).
697) Mulder, Chemie d. Bieres übers. v. Grimm. Leipzig 1858.
698) Musculus und Gruber, Z. phys. Ch. II. 188 (1878).
699) — und v. Mering, ibid. II. 403.
700) *Naegeli, Beitr. z. Kenntn. d. Stärkegr. Leipzig 1874.
701) Nasse, Pflüg. Arch. XIV. 477 (1877).
702) *Osborne und Campbell, J. Amer. Chem. Soc. XVIII.
703/4) Pavy, Journ. of physiol. XX. S. IV. XXII. 391 (1898) (Leberd.).
705/6) Payen, Ann. Chim. Phys. (4). IV. 286. VII. 382.
707) — und Persoz, Ann. Chim. Phys. (2.) 53. 73 (1837).
708/9) Plósz und Tiegel, Pflüg. A. VI. 249. VII. 391.
710) Pottevin, Monit. scientif. 1900. 116.
711) Pugliese, Pflüg. A. 69. 115 (1898).

712) Reychler, Chem. Ber. 22. 414 (1887).
713) Richet, Journ. de l'anat. et phys. XIV. 285.
714) — C. R. Soc. Biol. 1894. 525.
715/6) Salkowski, Pflüg. Arch. 56. 339. Virch. Arch. 109. 358 (1887).
717) Saussure, Poggendorffs Ann. 32. 194 (1834).
718) Scheibler und Mittermeier, Chem. Ber. 24. 303 (1891) (Isomaltose).
719) Schifferer, Die nichtkrystallis. Prod. d. Einw. v. Diast. Diss. Basel 1892.
720) Schlesinger, Virch. Arch. 125. 146.
721) E. Schulze, Chem. B. VII. 1047.
722) Schwann, Pogg. Ann. 38. 359.
723) Schwarzer, Journ. pract. Ch. (2). I. 212.
724) Schwiening, Virch. Arch. 136. 465.
725) Seegen, C. med. Wiss. 1876. 849.
726) Seegen und Kratschmer, Pflüg. Arch. XIV. 593.
727) Solera, Maly's Jb. 1878. 235.
728) *Stone und Wright, Journ. Americ. Chem. Soc. XX. 637 (Takad.).
729) O'Sullivan, Journ. Chem. Soc. 1876. II. 125.
730) Sykes und Mitchell, Analyst. XXI. 122 (1896).
731) Takamine, Maly's Jb. 1899. 721.
732) Tangl, Wien. Acad. 92. 72.
733/4) Tebb, Journ. of Phys. XV. 421 (1893). XXII. 427 (1898).
735) Wijsman, Recueil des trav. ch. d. Pays-Bas. IX. 1 (Zweienzymth.).
736) Wingrave, Lancet 1898. I. 1251.
737/8) Wróblewski, Z. ph. Ch. 24. 173. Chem. Ber. 31. 1130 (1898).
739) *Zanier, Gazeta degli Ospit. 1895. 44.
740) Zulkowski, Wien. Acad. 77. II. 647.
741) — und König, ibid. 71. II. 453.

13) Cytase und ähnliche Fermente.

742) de Bary, Botan. Ztg. 1886. 415.
743) Bourquelot, Journ. Pharm. Chim. 1899. S. A.
744) — und Hérissey, C. R. soc. biol. 1898. 777.
745) — —. C. R. 129. 130 (Seminase).
746) — — Journ. Pharm. Chim. (6). XI. 104. (1900). (Seminase).
747) Brown, Journ. Chem. Soc. 61. 352 (1892).
748) — und Morris, ibid. 57. 497 (1890).
749) Czapek, Ber. d. botan. Ges. XVII. 166 (1899) (Hadromase).
750) *Dragendorff, Mater. z. e. Monogr. d. Inulins. St. Petersb. 1870.
751) Effront, C. R. 125. 116 (1897) (Carubinase).
752) van Ekenstein, ibid. 125. 719 (Carubinase).
753) Green, Ann. of botany I. 223.
661) Grüss, Ber. d. bot. Ges. XII (1894) S. (60).
662) Festschr. f. Schwendener. Berlin 1899. S. 184.
285) Hartig, D. Zersetzung des Holzes. Berlin 1878.
286) Der echte Hausschwamm. ibid. 1885.
754) *Knauthe, Z. f. Fischerei V. 189.
755) Kohnstamm, Priv. Mitth. (Cytase).
756) Mitscherlich, Berl. Acad. 1850. 102.
757) Miyoshi, Jahrb. wissensch. Bot. 28. 277 (1895).
758) Newcombe, Ann. of. bot. XIII. 49 (1899).
759) Omelianski, C. R. 121. 653 (1895).
760/1) Reinitzer, Z. phys. Ch. XIV. 453. 23. 175.

762) Reiss, Landw. Jb. XVIII. 711 (1889). (Referat).
763) Sachs, Bot. Ztg. 1862. 243.
764) Schmulewitsch, Bull. Acad. St. Petersb. 1879. 549.
765) Tappeiner, Z. f. Biol. XX. 52 (1884).
766) Ward, Ann. of botany II. (1888). XII. 565 (1898).

14) Fermente der Disacharide.

(I = Invertase, M = Maltase.)

767) Amthor, Z. ph. Ch. XII. 558 (1888). (M).
768) Barth, Chem. Ber. IV. 474 (1871). (I).
769) Bau, Z. f. Spir.-Ind. 1899. 232 (Trehalase).
770) Bauer, Chemikerzeitg. 1895. 1873 (Melibiase).
771) Berthelot, C. R. 51. 980 (1860) (I).
772) Beyerinck, C. f. Bact. VI. 44 (1889). (Lactase).
773) Bourquelot, Journ. anat. et phys. 22. 162 (1886).
774) — Journ. d. pharm. 1883. 420.
775/7 — C. R. soc. biol. 1893. 425. 1896. 205. 1898. 200.
778) — u. Gley, ibid. 1895. 515.
779) — u. Hérissey, C. R. 125. 116 (1897).
780) Donath, Chem. Ber. VIII. 795 (1875). (I).
781) *Dubourg, Sur l'amylase des urines. Thèse. 1889.
782) Dumas u. Boullay, Ann. Chim. Phys. 37. 45. (1828). (I).
273) Fernbach, Ann. Inst. Past. IV. 1 (1890) (I).
783) E. Fischer, Chem. Ber. 28. 1433 (1895).
784) — u. Lindner, ib. 28. 3034.
785) Géduld, Woch. f. Brauer. VIII. 545 (1891). (M).
786) Gley u. Bourquelot, C. r. soc. biol. 1895. 247.
787) Gunning, Chem. Ber. V. 821 (1872). (I).
157) Hamburger, Pflüg. A. 60. 575.
788) Hartley, Journ. Chem. Soc. 51. 58 (1887). (I).
789) Hill, ibid. 73. 634 (1898). (M).
790) Kjeldahl, Z. ges. Brauw. 1881. 457 (I).
791) Külz, Pflüg. Arch. 24. 81 (1881). (M).
792) — u. Vogel, Z. f. Biol. 31. 108 (1894) (M).
793) Lea, Journ. of Physiol. VI. 1885.
794) Liebig, seine Ann. 153. 1. 137 (I).
795) Lintner u. Kröber, Chem. Ber. 28. 1050 (1895).
796) A. Mayer, Z. ges. Brauw. 1892 86. (I).
797) v. Mering, Zeitschr. f. phys. Ch. V. 187. (M).
798) Nägeli, Münch. Acad. 1878. 178.
799) Osborne, Z. phys. Ch. 28. 339 (1899) (I).
800) Pottevin u. Napias, C. R. soc. biol. 1898. 237.
801) Quévenne, J. pract. Ch. XIV. 334 (I).
802) Renzi, Berl. klin. Woch. 1892. 23 (I).
803) Salkowski, Centralbl. med. Wiss. 1877. 606.
804) Shore u. Tebb, Journ. of phys. XIII. p. (XIX). (M).
805) O'Sullivan, Journ. Chem. Soc. 61. 593 (1892). (I).
806) — u. Tompson, ibid. 57. 834 (1890). (I).
807) Wróblewski, Chem. Ber. 31. 1134 (1898).

15) Glucosidspaltende Fermente.

(E = Emulsin, M = Myrosin.)

808) **Berg**, Bull. soc. chim. (3) XVII. 85 (1897) (Elaterase).
809) **Beyerinck**, C. f. Bact. (II). V. 425 (1899). (Gaultherase).
810) **Bouchardat**, C. R. XX. 111 (1845).
811) *__Bougarel__, Sur l'amygdaline. Thèse. Paris 1877. (E).
812) **Bourquelot**, Journ. Pharm. Chim. (5) **30**. **433** (1894).
813) — ibid. **1896**. S. A.
814) **Boutron** u. **Robiquet**, J. de pharm. XVII. 279. (E).
815) — u. **Frémy**, Lieb. Ann. **34**. 230 (1840). (E).
816/7) **Bréaudat**, Bull. soc. biolog. (10) V. 1031 (1898). C. R. **127**. 769 (1898).
818) **Bull**, Lieb. Ann. **69**. 145 (1849). (E).
819) **Bussy**, Lieb. Ann. **34**. 223 (1840). (M).
820) **Fauré**, Journ. d. pharm. XVII. 279 (M).
821) E. **Fischer**, Chem. Ber. **28**. 1508 (1895) (E).
822) **Gérard**, C. R. **124**. 370 (1895). (E).
823/4) **Guignard**, Journ. d. botan. IV. 3. 19. 385 (1890) (E, M).
825) — Journ. pharm. chim. (5) **21**. 233 (1890).
826) *__Heinricher__, Mitth. botan. Inst. Graz 1886 (M).
827) **Hérissey**, Recherch. sur l'Émulsine. Thèse. Paris 1899.
828) **Hofmann** (A.W.), Chem. Ber. VII. 509 (1874) (M).
829) **Hubatka**, Lieb. Ann. **47**. 157 (1843) (M).
830) **Johansen**, Ann. scienc. nation. d. Bot. (7) VI. 118 (1897). (E).
831) **Jorissen**, Journ. pharm. d'Anvers. **1894**. 23. (E).
832) — u. **Hairs**, Bull. Acad. Belgique (9) **21**. 518 (1891). (E).
833) **Kawalier**, J. pract. Ch. **58**. 193 (1853). (E).
834) **Krauch**, Landw. Versuchst. **23**. 77.
835) **Liebig** u. **Wöhler**, Lieb. Ann. **22**. 1 (1837). (E).
836) — Poggend. Ann. **41**. 345.
837) *v. **Lookeren - Campagne**, Landw. Vers.-Stat. **43**. 401 (1894). (Indigo).
838) **Ludwig** u. **Lange**, Z. f. Pharm. III. 430. 577. (M).
839) *__Lutz__, Bull. soc. botan. d. France **44**. 26. 263 (1897). (E).
840) **Ortloff**, Arch. d. pharm. **48**. 12 (1846) (E).
841) **Piria**, Ann. Chim. Phys. (3) XIV. 257 (1845). (E).
842) **Pless**, Lieb. Ann. **58**. 36 (1846). (M).
843) **Poleck**, Pharm. Ztg. 1891. 314. (E).
844) **Portes**, Journ. pharm. chim. **26**. 410 (1877). (E).
845) *__Procter__, Amer. Journ. of Pharm. XV. 241 (Gaultherase).
846) **Puriewitsch**. Ber. bot. Ges. XVI. 368 (1898). Bull. soc. biolog. (10) IV. 686 (1897). (E).
847) **Robiquet**, Journ. pharm. chim. **24**. 326. (1838). (M).
848/49) — u. **Boutron-Chalard**, Ann. Chim. Phys. (2) **44**. 352 (1830). Journ. Pharm. Chim. **24**. 196 (1838). (M).
850) **Schmidt**. Chem. Ber. X. 187 (1877). (E).
851) **Schmidt**, Üb. Emulsin. Diss. Tübingen 1871.
852) **Schunck**, J. f. pract. Ch. **63**. 222 (1854). (Erythrozym).
852) **Schneegans**, Journ. d. Pharm. v. Els.-Lothr. **1896**. 17. (Gaultherase).
853) — u. **Gerock**, Arch. d. pharm. **232**. 437 (1894).
854) **Smith**, Z. phys. Ch. XII. 432 (1886).
855) **Simon**, Poggend. Ann. **50**. 377. (1840). (M).

856) Spatzier, Jahrb. f. wiss. Bot. **25.** 93. (1893). (M).
Tanret, Rev. gén. d. sciences. **1900.** 100. (Rhamnase).
857) Thibierge, Journ. d. pharm. V. 439 (1819). (M).
858) Thomé, Botan. Ztg. **1865**. 240. (E).
859) Thomson, Journ. d. pharm. V. 448 (1819).
860) — u. Richardson, Ann. d. Pharm. **29.** 180 (1839).
861) Vollrath, Arch. d. pharm. (2) **148.** 156 (1871). (M).
862) Ward u. Dunlop, Ann. of bot. I. 1 (1887). (Rhamnase).
863) Wertheim, Lieb. Ann. **52.** 52 (M).
864) Will u. Körner, Lieb. Ann. **125.** 257 (1863). (M).
865) — u. Laubenheimer, ibid. **199.** 162 (1879). (M).

16) Andere hydrolytische Fermente.

(H = Harnstoffgährung, L = Lipase.)

866) Achard und Clerc, C. R. **129** 281 (1899). (L.)
867) Boerhave, Elem. chim. London 1732. (H).
868) Brodmeier, C. f. Bact. XVIII. 380 (1895). (H).
869) *Cambier, Ann. d. Microgr. 1893. (H).
870) Cazeneuve und Livon, C. R. **85.** 571 (H).
871) Connstein, Medic. Woche. 1900. No. 15. (L).
872/3) — und Michaelis, Pflüg. Arch. **65.** 473. **69.** 76. (L).
874) H. Fischer, Berl. Klin. Woch. **1864.** 18. (H).
875) Fleury, Ann. Chim. Phys. (4). IV. 38 (1865). (L).
876) Fourcroy und Vauquelin, Ann. d. chim. **31.** 48. **32.** 80. 113. (H).
877) Gérard, C. R. soc. biol. **48.** 516 (1896). (H).
878) Green, Proceed. Royal Soc. **48.** 370 (1890). (L).
879) Grützner, Pflüg. Arch. XII. 302. (L).
880) *Guiard, Transform. ammon. des urines. Thèse. Paris 1883.
881) Hankel, Schmidt's Jb. III. 1 (H).
882) Hanriot, C. R. **123.** 753. **124.** 778 (1896/97). (L).
883) — C. R. soc. biol. **48.** 925 (1896). (L).
884/5) — und Camus, C. R. **123.** 831. **124.** 235. (L).
886) Heritsch, Centr. med. Wiss. **1875.** 449. (L).
887) Hoppe-Seyler, Pflüg. Arch. XII. 1. (Calciumformiat).
888) v. Jaksch, Z. ph. Ch. V. 395. (H).
889) Klug, Pflüg. Arch. **70.** 329. (L).
890) Knauthe, Du Bois Arch. f. Phys. **1898.** 149. (L).
891) Ladureau, C. R. **99.** 877 (1884). (H).
892) Lea, Journ. of phys. VI. 136 (H).
893) Leone und Sestini, Landw. Versuchsstat. **38.** 157 (1891). (H).
894/5) Leube, Z. klin. Med. III. 233 (1881). Virch. Arch. **100.** 540. (H).
896) Lumia, Maly's Jb. **1899.** 724. (L).
897/9) Miquel, Bull. soc. chim. **29.** 387. **31.** 391. **32.** 126 (1878ff.). (H).
900/5 — *Ann. d. Microgr. I. II. III. V. VIII. IX.
906) — C. R. **111.** 397 (1890).
907) Müller, J. pr. Ch. **81.** 452 (1860). (H).
908) Müntz, Ann. Chim. Phys. (4). **23.** 472 (1871). (L).
909/10) Musculus, C. R. **78.** 132. Pflüg. Arch. XII. 214. (H).
911) Ogata, Du Bois Arch. f. Phys. **1881.** 515. (L).
912) Pasteur, C. R. **50.** 849 (1860). (H).
913) — u. Joubert, ib. **83.** 5 (1876). (H).

914) Pelouze, Ann. Chim. Phys. (3). 45. 319. (L).
915) Proust, Ann. d. chim. (2). XIV. 257. (H).
916) Prout, Ann. of philos. XI. 352 (1818). (H).
917) Popoff, Pflüg. Arch. X. 142. (Calciumformiat).
918/9) Sachs, Botan. Ztg. 1859. 178. 1862. 242. (L).
920) Shearman, Schmidt's Jahrb. 55. 276. (H).
921/2) Sigmund, Monatsh. f. Chemie. XI. 272 (1890). XIII. (1892). (L).
923/4) van Tieghem, C. R. 52. 210. 58. 210. (H).

17) Milchsäuregährung.

925) Adametz, C. f. Bact. (2). I. 465 (1895).
926) Blondeau, Journ. pharm. chim. XII. 244. 336 (1847).
927) Boutron und Frémy, Ann. Chim. Phys. (3). II. 257 (1841).
928) Boutroux, C. R. 86. 615 (1878).
939) Braconnot, Ann. Chim. Phys. 36. 116.
940) Chassevant und Richet, C. R. 117. 673 (1893).
941) Cohn, Z. phys. Ch. XIV. 25 (1890).
942) Du Bois-Reymond, Sitzb. Berl. Acad. 1859. 288.
943) Frankland und Mac Gregor, Journ. Chem. Soc. 63. 1028 (1893).
944) Gay-Lussac u. Pelouze, Ann. Chim. Phys. 52. 410 (1833).
945) Hilger, Lieb. Ann. 160. 336 (1871).
946) Hirschfeld, Pflüg. Arch. 47. 510 (1890).
947) Hueppe, Mitth. d. Kais. Gesundh.-Amts. II. 309 (1884).
948) Kayser, Ann. Inst. Past. VIII. 779 (1894).
949) Kuprianow, Arch. f. Hyg. XIX. 282 (1893).
950) Leichmann, C. f. Bact. XVI. 826.
951) Lister, Pharm. Journ. VIII. 555 (1877/78).
952) *A. Mayer, Maandbl. f. Naturwetenschaft. 1892.
953) Nencki und Sieber, C. f. Bact. IX. 304.
954/6) Pasteur, C. R. 45. 913. 47. 224. 48. 337 (1857/58).
957/8) Péré, Ann. Inst. Past. VI. 528. VII. 737 (1892/93).
959) Richet, C. R. 114. 1494 (1892).
960) Schardinger, Monatsh. f. Chem. XI. 545 (1890).
961) Tate, Journ. Chem. Soc. 63. 1263 (1893).
962) Timpe, Arch. f. Hyg. XVIII. 1 (1893).

18) Alkoholische Gährung.

[Z = Zymase (auch sonstiges Vorkommen von Alkohol u. CO_2 in Pflanzen)].

963) Abeles, Chem. Ber. 31. 2261 (1898). (Z).
964) Adametz, C. f. Bact. V. 116 (1889).
965) *Adrian, Bull. gén. d. Thér. 1900. S. 156. (Z).
966) Albert und Buchner, Chem. Ber. 33. 266. 971 (1900). (Z).
967) Baeyer, Chem. Ber. III. 73 (1870).
968) Barfoed, J. pract. Ch. (2). VI. 334 (1872).
969) Bert, C. R. 80. 1579.
970/1) Berthelot, C. R. 59. 904 (1864). 128. 1366 (1899). (Z).
972) Beyerinck, C. f. Bact. XVI. 49 (1894).

973) **Boehm**, Sitzb. Wien. Acad. **67** (1). 211 (1873). (Z).
974) **Bouchardat**, C. R. XVIII. 1120 (1844).
975/6) **Bourquelot**, C. R. Soc. biol. **1885**. 191. 221. 356.
977) **Brefeld**, Sitzb. Phys. Med. Soc. Würzburg **1873**. 163.
978/80) — Chem. Ber. VII. 281. 1066. VIII. 421 (1875).
981) — Landwirthsch. Jahrb. III. 281 (1876).
982) **Broek, van den**, Lieb. Ann. **115**. 75 (1860).
983) A. **Brown**, J. Chem. Soc. **61**. 369 (1892).
984/91) E. **Buchner**, Chem. Ber. **30**. 117. 1110. 2668. **31**. 209. 568. 1084. 1090. **32**. 127 (1899). (Z).
992) **Buchner und Rapp**, Z. f. Biol. **37**. 82 (1899).
993) **Busse**, C. f. Bact. XVI. 175 (1894). (Patholog. Hefen).
994) **Cagniard-Latour**, Ann. Chim. Phys. (2). **68**. 206 (1836).
995/6) **Cahours**, C. R. **58**. 495. 635 (1864). (Z).
997) **Claudon und Morin**, C. R. **104**. 1109 (1887).
998) **Cochin**, C. R. **96**. 852 (1883).
999) **Curtin**, Ann. Inst. Past. X. 449 (1896). (Pathol. Hefe).
1000) ***Delbrück**, Woch. f. Brauerei. **1895**.
1001) **Devaux**, C. R. **128**. 1346 (1899). (Z).
1002) **Dienert**, C. R. **128**. 569.
1003) — Ann. Inst. Past. XIV. 139 (1900).
1004) **Döbereiner**, Schweigg. Journ. **54**. 418 (1828).
1005) **Döpping und Struve**, Journ. pract. Ch. **41**. 255 (1847).
1006) **Dubrunfant**, C. R. **42**. 945 (1856).
1007/8) **Duclaux**, Ann. Inst. Past. I. 573 (1886). XI. 348 (1897).
1009) **Dumas**, Ann. Chim. Phys. (5). III. 57 (1874).
1010) — u. **Boullay**, ibid. **37**. 45 (1828).
1011) **Dumont**, Trommsdorff's Journ. f. Pharm. III. (2). 563 (1819). (Z).
1012/16) **Effront**, Bull. Soc. Chim. (3). V. 148. 476. 731. VI. 786. IX. 151 (1893).
1017) — C. R. **119**. 92. 169 (1894).
1018) **Emmerling**, Chem. Ber. **32**. 342 (1899).
1019) **Fitz**, Chem. Ber. (VI. 48). VIII. 540 (IX. 1352 [1876]).
1020) ***Fitz**, Ann. d. Oenol. II. 428.
1021/2) **Foth**, Z. ges. Brauw. **1889**. 182. C. f. Bact. I. 502 (1885).
1023) **Gay-Lussac**, Ann. d. chim. **95**. 311 (1815).
1024/5) **Gayon und Dubourg**, Ann. Inst. Past. I. 525 (1886). C. R. **110**. 865 (1890).
1026) **Giltay und Aberson**, Jb. wiss. Bot. **26**. 543 (1894).
1027) **Greg**, C. f. Bact. XV. 46 (1894).
1028) **Hansen**, Z. ges. Brauw. **1881**. 449.
1029) — Unters. a. d. Prax. d. Gährggew. 1895 (II. Aufl.).
1030) **Helmholtz**, J. pract. Ch. **31**. 429 (1844).
1031) **Hoffmann**, Bot. Ztg. 1860. 49.
1032) **Jacquemin**, N. Z. f. Rübenz. Ind. XX. 267 (1888).
1033) ***Jodlbauer**, Z. d. Vereins f. Rübenz. Ind. **1888**. 308.
1034) **Jörgensen**, C. f. Bact. (2). I. 321 (1895).
1035) **Juhler**, ibid. (2). I. 326.
1036) **Kayser**, Ann. Inst. Past. V. 395 (1891).
1037) **Klöcker und Schiönning**, C. f. Bact. (2). I. 777.
1038) **Koch und Hosaeus**, ibid. XVI. 145 (1894).
1039) **Kosai und Yabe**, ibid. (2). I. 619 (1895).
1040) **Kützing**, Journ. pract. Chem. XI. 385.
1041) ***Laurent**, Ann. soc. belg. d. microscop. XIV. (Koch's Jahrb. **1890**. 54).
1042) ***Lavoisier**, Elém. d. chim. I. 139.

1043) Lavoisier, Ann. d. chim. II. 238 (1789). **36**. 116.
1044) Lechartier und Bellamy, C. R. **69**. 466. **75**. 1204. **79**. 949. 1006 (Z).
1045) Liebig, s. Ann. **153**. 1 (1870).
1046/7) Lindet, C. R. **107**. 182 (1888). **112**. 102 (1891).
1048) Linossier, Ann. Inst. Past. V. 171.
1049) Linossier und Roux, C. R. **110**. 868.
1050) Lobry de Bruyn, Rec. d. trav. chim. des Pays-Bas. 1897/98.
1051) Lüdersdorff, Poggend. Ann. **67**. 408.
1052) Mach und Portele, Landw. Versuchstat. **41**. 261 (1892).
1053) Mann, Ann. Inst. Past. VIII. 785 (1894).
1054) Maumené, C. R. **57**. 398 (1863).
1055/6) Mayer, Landw. Versuchstat. XVI. 277. XXV. 301.
1057/8) Mazé, C. R. **128**. 1608. **130**. 424 (1899/1900). (Z).
1059/60) Moritz, Chem. Ber. VII. 156. 436 (1874).
1061) Müller-Thurgau, Chem. Centralbl. 1899. I. 916.
1062) Müntz, C. R. **86**. 46 (1878). (Z).
1063) *Neubauer, Ann. d. Oenol. IV. 68.
1064) Neumeister, Chem. Ber. **31**. 2963 (1898). (Z).
1065/70) Pasteur, C. R. **50**. 303. 849. 1083. **51**. 348. 675. **52**. 1260. **75**. 1056 (1872).
1071/2) — Ann. Chim. Phys. (3). **58**. 323 (4). **25**. 145.
1073/74) — *Etudes sur la bière, le vin.
1075) — Die Alkoholgährg., dtsch. von Griessmayer. Stuttgart 1871. II. Aufl. 1878.
1076) *Pedersen, Meddelelser fra Carlsberg Labor. IV. 1878.
1077) Prior, C. f. Bact. (2). I. 432.
1078) Quévenne, Journ. pract. Ch. XIV. 334.
1079) Rau, Arch. f. Hyg. XIV. 225 (1892).
1080) Reess, Unters. üb. Alkoholgährungspilze. Leipzig 1870.
1081) — *Ann. d. Oenol. II. 145.
1082) Rey-Pailhade, C. R. **118**. 201.
1083) Röhmann, Z. phys. Ch. V. 103.
1084) Roeser, Ann. Inst. Past. VII. 41 (1893).
1085) Sanfelice, Z. f. Hyg. XIX. 32. 394 (1896). (Pathol. Hefe).
1086) Schmidt, Lieb. Ann. **61**. 186 (1847).
1087) Schuhmacher, Wien. Acad. Sitzb. **70** (1). 1874.
1088) Schulz, Virch. Arch. **108**. 427 (1887). Pflüg. Arch. **42**. 517 (1888).
1089) Schunck, Chem. B. **31**. 309 (1898). (Z).
1090) Schwann, Poggend. Ann. **41**. 184 (1837).
1091) Tanret, C. R. **117**. 50 (1894).
1092) Traube, Chem. Ber. VII—XV. s. a. s. ges. Abhandl. Berlin 1899.
1093) Thylmann und Hilger, Arch. f. Hyg. VIII. 451.
1094) v. Udranczky, Z. phys. Ch. XIII. 539.
1095) Voit, Z. f. Biol. **29**. 149.
1096) Wiesner, Sitzb. Wien. Acad. **59** (2). 495 (1869).
1097) Will, Z. ges. Brauw. **1896**. 20.
1098) Wortmann, Landw. Jahrb. **23**. 535 (1894).
1099) — Kochs Jahrb. **1894**. 168.
1100/1) Wróblewski, Centr. f. Physiol. XII. 697. XIII. 284 (1899).

19) Oxydasen.

(H = Harnstoffbildendes, G = glycolytisches F.)

1102) Abelous, C. R. soc. biol. **51**. 328 (1899).
1103/4) Abelous u. Biarnès, Arch. d. phys. **1895**. 195. **1898**. 664.

1105/13) Abelous, C. R. soc. biol. 48. 97. 262. 49. 179. 249. 285. 493. 559. 576. 50. 495 (1896—98).
1114) — u. Gérard, C. R. 129. 164 (1899).
1115/16) Achard u. Weil, C. R. soc. biol. 50. 139. 986 (1898). (G).
1117/18) Arthus, Arch. d. phys. (5) III. 425. IV. 337. (1891/92). (G).
1119) Ascoli, Pflüg. Arch. 72. 340 (1898). (H).
1120) Baumann u. Herter, Z. phys. Ch. I 265 (1877).
1121) Bernard, Cl., Leç. sur le diabète, dtsch. von Posner. 1878.
1122/30) Bertrand, C. R. 118. 1215. 120. 266. 121. 166. 783. 122. 1132. 1215. 123. 463. 124. 1032. 1355 (1894—97).
1131) Bing, C. f. Phys. XII. 210 (1898). (Jecorin).
1132) Blumenthal, Z. phys. diät. Therapie. 1898. 250.
1133) Bouffard, C. R. 124. 706 (1897).
1134/49) Bourquelot, C. R. soc. biol. 48. 516. 811. 825. 893. 896. 49. 25. 402. 50. 381 (1896/98).
Journ. pharm. Chim. (6) IV. 145. 241. 440. V. 465. VI. 426.
C. R. 123. 315. 423 (1896). Bull. soc. mycol. XIII. 65. S. A.
1150) — u. Bertrand, Bull. soc. mycol. XII. 18. 27. S. A.
1151) *Brissemoret und Jeanne, Journ. Pharm. Chim. (6) VIII. 481.
1152) *Broek, van d., Liebig u. Kopps Jahresb. 1849/50.
1153) Carnot, C. R. soc. biol. 48. 552 (1896).
1154/55) Cazeneuve, C. R. 124. 406. 781 (1897).
1156) Chassevant u. Richet, C. R. soc. biol. 49. 743 (1897). (H).
1157) Colenbrander, Maly's Jb. 1892. (137). (G).
1158) Cornu, Journ. Pharm. Chim. (6). X. 342 (1899).
1159) Denigès, C. R. 130. 32 (1900).
1160). Drechsel, Journ. pract. Ch. (2) 33. 425 (1886). (Jecorin).
1161) Dubois, C. R. 123. 653 (1896).
1162) *Dupouy, Journ. pharm. chim. (6) VIII. 551 (1899).
1163) *Gaglio, Riforma medica 1891 (G).
1164) Giard, C. R. soc. biol. 48. 483 (1896).
1165) Gottlieb, Münch. med. Woch. 1895. 547. (H).
1166) Gouirand, C. R. 120. 887 (1895).
1167) Grüss, Ber. d. d. bot. Ges. XVI. 1898.
662) — Festschr. f. Schwendener, Berlin 1899. 184.
Hahn, Berl. klin. Woch. 1897. 499.
1168) Harley, Journ. of physiol. XII. 391.
1169) Harris, Journ. of anat. and phys. 31. 381.
1170) Henriques, Z. phys. Ch. 23. 244 (1897). (Jecorin).
1171) Hofmeister, Arch. f. exp. Path. 37. 426 (1896). (H).
1172) Hoppe-Seyler, Chem. Ber. XVI. 117. 1917 (1883).
1173) Hugounencq u. Paviot, C. R. soc. biol. 48 (1896).
1174) Jacobsen, C. f. Phys. VI. 244 (1892). (Jecorin).
1175) Jacoby, Virch. Arch. 157. 235 (1899).
1176) Jacquet, A. exp. Path. 29. 386.
1177) Kraus, Z. klin. Med. 21. 315.
1178) Laborde, C. R. 123. 1074 (1896).
1179) Lépine, Wien. med. Presse 1892. Nr. 26. (G).
1180) — C. R. 120. 139 (1895).
1181) Lépinois, C. R. soc. biolog. 51. 428 (1899).
1182) Lindet, C. R. 120. 370 (1895).
1183) Linossier, C. R. soc. biol. 50. 373 (1898).
1184) Loeb, Arch. f. Entwickl. Mechanik VIII. 689 (1899).
1185) *Loew, C. f. Bact. (2) VI. 109 (1900).
1186) Loewi, Z. phys. Ch. 25. 511 (1898).
1187) Manasse, Z. phys. Ch. 20. 478 (1895).

1188) **Martinaud**, C.R. 120. 1426 (1895).
1189) **Medwedew**, Pflüg. Arch. **65**. 249 (1897).
1190) **Minkowski**, Berl. klin. Woch. **1892**. 5.
1191) — Arch. exp. Path. **31**. 175 (1893).
1192) **Nasse u. Framm**, Pflüg. Arch. **63**. 203 (1896).
1193) **Naunyn u. Schultzen**, Dubois-Arch. **1867**. 349.
1194) ***Padéri**, Soc. med. chir. di Pavia 1896.
1195) **Pål**, Wien. klin. Woch. **1891**. 4.
1196) **Pfeffer**, Ber. d. d. bot. Ges. III. 82 (1889).
1197) **Pflüger**, sein Arch. X. 252.
1198) **Phisalix**, C. R. soc. biol. **50**. 793 (1898).
1199) **Piéri u. Portier**, C. R. **123**. 1314 (1896).
1200) — — Arch. d. physiol. **1897**. 61.
1201/2) **Pohl**, Arch. f. exp. Path. **37**. 413. **38**. 65.
1203) **Portier**, C. R. soc. biol. **50**. 452 (1898).
1204) **Raciborski**, Ber. d. bot. Ges. XVI. 119 (1898).
1205) — *Flora 1900.
1206) **Rey-Pailhade**, C. R. soc. biol. **48**—**50** (Philothion).
1207) — ibid. **48**. 479 (1896).
1208) **Richet**, C. R. **118**. 1127 (1894).
1209) — C. R. soc. biol. **46**. 525 (1894). (H).
1210) **Röhmann u. Spitzer**, Chem. Ber. **28**. 567 (1895).
1211) **Rywosch**, C. f. Physiol. XI. 495. (G).
1212/4) **Salkowski**, Z. phys. Ch. VII.
— C. med. Wiss. **1894**. 913.
— Virch. Arch. **147**. 1.
1215) ***Sansoni**, Riforma medica 1891; 1892.
1216/7) **Schaer**, Apotheker-Ztg. **1894**. 749.
— Z. f. Biol. **37** (1899).
1218) **Schmiedeberg**, A. f. exp. Path. XIV. 288.
1219) **Schmidt, A.**, Pflüg. Arch. VI. 508.
1220) **Schönbein u. a.** Z. f. Biolog. I—IV.
435) **Schwiening**, Virch. Arch. **136**. 478.
1221) **Schwarz**, A. f. exp. Path. **41**. 60 (1898). (H).
1222) **Seegen**, C. f. Phys. V. Nr. 25 (1891).
1223) — Wien. klin. Woch. **1892**. 207.
1224/28) **Spitzer**, Berl. klin. Woch. **1894**. 949.
— Pflüg. Arch. **60**. 303. **67**. 615. **71**. 596. **76**. 192 (1899).
1229) ***Struve**, Ann. Chem. Pharm. **163**. 160.
1230) **Tolomei**, Maly's Jb. **1896**. 913.
1231) **Traube**, Chem. B. XV. 659 (1882).
1232) **Umber**, Z. klin. Med. **39**. 12 (1900).
1233) **Weiss**, Z. phys. Ch. **24**. 542 (1897).
1234) **Wurster**, Chem. Ber. XIX. 3195 (1886).
1235) **Yoshida**, Journ. Chem. Soc. **43**. 472 (1883).

20) Oxydative Gährungen.

1236/41) **Bertrand**, C. R. **122**. 900. **126**. 842. 984. **127**. 124. 728. 762 (1896—98).
1242/3) **Boutroux**, Ann. Inst. Past. II. 308 (1887). C. R. **127**. 1224 (1898).
1244) **Cohn**, Z. phys. Ch. XIV. 75 (1890).
1245) ***Döbereiner**, Schweiggers Journ. VIII. 321.
1246) **Emmerling**, Chem. Ber. **32**. 541 (1899).
1247) **Giunti**, Maly's Jb. **1890**. 439.
1248) **Henneberg**, C. f. Bact. (II). IV. 71 (1898).
1249) **Hoyer**, ibid. (II). IV. 867.
1250/1) **Lafar**, ibid. XIII. 684. 1864 (1893).

1252) Liebig u. a., J. pr. Ch. (2). I. 35. 312.
1253) *Mayer u. v. Knieriem, Landw. Versuchsstat. XVI. 305.
1254) *Pasteur u. a., Etudes sur le vinaigre. Paris. 1868.
1255) Tolomei, Koch's Jahrb. 1890. 139.
1256) Vincet und Delachanel, C. R. 125. 716 (1897).
1257) Wehmer, Sitzb. Berl. Acad. 1893. 519.
1258) *Wermischeff, Ann. Inst. Past. VII. 213 (1893).
1259) Zopf, Ber. d. d. botan. Ges. 1889. 94.

21) Diverse Citate.

1260) Arrhenius, Z. f. physikal. Ch. IV. 226 (1889). (H.-Ionen).
1261) Beyerinck, C. f. Bact. II. (1899). 27. (Mosaikkrankheit).
1262) Boltzmann, Naturw. Rdsch. 1899. 39.
1263/4) *Bordet, Ann. Inst. Past. IX. XII. (Hämolyse).
1265) *Bredig und Müller von Berneck, Z. physik. Ch. 31. 258 (1899). (Colloidales Platin).
1266) Brieger und Cohn, Z. f. Hygiene. XVI. 385. (Giftigkeit von Tetanustoxin).
1267) Ehrlich, Das Sauerstoffbedürfniss des Organismus. Berlin 1885.
1268) — Klinisches Jahrb. VI.
1269) Grimbert, C. R. soc. biol. 48. 191 (Pneumobacillus).
1270) Kossel (A. u. H.), Z. f. Hyg. 27. (Bactericide Stoffe).
1271) Liebig, Lieb. Ann. 113. 246. (Cyanamid).
1272) *Metschnikoff, Ann. Inst. Past. IX. (1895). (Hämolyse).
1273) Moxter, D. med. Woch. 1899. Nr. 42. (Bacteriolyse).
1274) Munk, Z. f. physiol. Ch. I. 357 (1877). (Glucosidspaltg. d. H_2O).
1275) Oppenheimer, Biolog. Centralblatt 1899. 799. (Toxine).
1276) Pasteur, C. R. 51. 298 (1860). (Vergähren von r.-Weinsäure d. Pilze).
1277) Pfeiffer, D. med. Woch. 1896. Nr. 7.
1278) — u. Marx, Z. f. Hyg. 27.
1279) Schmitt und Glutz, Chem. Ber. I. 66 (1867). (Cyanamid).
1280) Trumpp. Z. f. H. 33. (Bacteriolyse).

Sachregister.

A.

Acanthosicyos 151.
Achrooamylase 173.
Achroodextrin 166 ff.
Acetal 254.
Acetonitril 46.
Actinomyces 177.
Addiment 128 ff.
Adenin 291.
Aesculin 219.
Agaricus 140. 195.
Agglutination 130.
Ailanthus 174.
Albumosen 105 ff.
— a. Caseïn 146.
Aldehyd 254.
Aldrovandia 138.
Alexine 125 ff.
Alkoholische Gährung 243.
Allantoïn 295.
Allöolyse 194.
Amidosäuren 89.
Amphoalbumose 107.
Amphopepton 105.
Amygdalin 218 ff.
Amylalkohol 254.
Amylase 155. 173.
Amylin 168.
Amylodextrin 167.
Amyloïne 171.
Amylomyces Rouxii 178.
Amylon 168.
Amylopsin 184.
Anagallis 134.
Angina catarrhalis 183.
Antialbuminat 105.
Antialbumose 105.
Antilab 66. 150.
Antipepton 105. 117.
Apiin 219.
Aquilegia 215.
Araban 159.
Arbutin 219.
Arginin 121.
Armillaria 195.
Artemis exoleta 291.
Ascidien 291.
Ascomyceten 268.
Ascosporen 268.
Asparagin 113.
— säure 120.
Aspergillus niger 139. 177. 198. 203. 209. 215. 230.
— oryzae 177. 195. 200. 206. 269.
Auxanographische Methode 157.
Avignonkörner 225.

B.

Bacille amylozyme 178.
Bacillus amylobacter 152. 196.
— fluorescens non liquefaciens 231.
— megaterium 207.
— mesentericus vulgatus 140. 178. 196. 207.
— prodigiosus 152.
Bacteriolytische F. 125 ff.
Bacterien d. Essiggährg. 306.
Bacterium termo 178.
— xylinum 309.
Beggiatoa 20.
Belegzellen 92.
Bernsteinsäure 252 ff.
Beta vulgaris 174.
Betulase 221.
Biuretreaction 106.
Blatta orientalis 95.

Blutdiastase 189.
Botrytis 195. 302.
Bouquetstoffe 255.
Brassica 223.
Bromelin 137. 151.
Brunnersche Drüsen 95.

C.

Cadaverin 25. 121.
Calciumformiat 234.
Capsella 223.
Carica papaya 134. 151.
Carubinase 198.
Caseïn 110. 146.
Caseïnogen 146.
Caseïnpeptone 110.
Cerasus avium 217.
Ceratonia siliqua 198.
Cheiranthus 223.
Chinon 288.
Chitin 109.
Chlorophyll 110.
Choleravibrionen 178. 207. 231.
Chondrin 109.
Chymosin 142 ff.
Citromyces 308.
Cochlearia 223.
Co-Fermente 302.
Collagen 109.
Colloidales Platin 46.
Conchiolin 109.
Coniferin 219.
Convallamarin 219.
Convallarin 219.
Convolvulin 219.
Cordyceps 230.
Cucumis utilissimus 137.
Cyanallyl 57.
Cyanamid 46.
Cyclamin 219.
Cyclonium 230.
Cynarase 152.
Cytase 175. 192 ff.

D.

Daphnin 219.
Darlingtonia 139.
Darmdiastase 185.
Deuteroalbumose 105.
Dextrin 165 ff.
Dextrinase 165. 172.
dextrinic acid 167.
Dextrinogen 166.
Dialysirbarkeit d. F. 36.
Diastase 157 ff.
— in Kryptogamen 176.
— zymogen 185.
Digitalin 219.
Digitalis 302.
Dionaea 138.
Dioxyaceton 309.
Drosera 138. 151.
Drosophila 309.
Dysalbumose 105.
Dystropodextrin 169.

E.

Ecballium 226.
Elastin 109.
Elaterase 226.
Empusa 230.
Emulsin 214 ff.
Enzyme 6.
Erythroamylase 173.
— dextrin 166 ff.
— granulose 167.
— zym 226. 260.
Essiggährung 305.
Eurotiopsis Gayoni 210.

F.

Fermentatio (etymol.) 2.
Fermentfieber 68.
Fibrinferment 152. 297.
Fibrinogen 153.
Ficus 137.
Fleischsäure 118.
Flusskrebs 186.
Formaldehyd 288.
Froschpepsin 96.
Fuligo septica 177.
Fundusdrüsen 92.
Furfurol 255.
Fusarium 206.
Fuselöle 255.

G.

Gährungsmilchsäure 238.
Galactase 123.
Galium 151.
Gaultherase 221.
geformte Fermente 6.
Gelbbeeren 225.
Gentianose 204.
Gentiopicrin 219.
Gerstenwein 267.
Giftwirkung auf F. 41.
Globulin-Oxydase 291.
Globulosen 106.
Glucase 199.
Gluconsäuregährung 309.
Glucovanillin 219.
Glutaminsäure 120. 132.
Glutencaseïn 110.
Glutin 109.
Glutose 109.
Glycerin 252 ff.
Glycerose 255.
Glycocoll 106. 122.
Glycogen 256.
Glycolytisches F. 295 ff.
Granulose 173.
Granulobacter 173.
Guajacreaction 45. 287. 291.
Guanin 291.
Gummiferment 194.

H.

Hadromase 195.
Hämolipase 229.
Hämolytisch. F. 125 ff.
Handelspepsine 96.
haptophore Gruppe 63.
Harnstoffbild. F. 22. 294.
Harnstoffgährg. 231.
Hauptzellen 92.
Hedera helix 215.
Hederin 219.
Helleboreïn 219.
Helianthenin 256.
Helicin 217. 219.
Helix pomatia 196.
Hemialbumose 105.
Hemicellulose 194.
Hemipepton 105.
Hesperidin 219.
Heteroalbumose 105.
Hexonbasen 89.
Histidin 121.
Histozym 115. 228.
Horneiweiss 197.
Hydrochinon 219.
Hydroxylamin 46.
hydroxylir. F. 303.
Hyperpepsie 94.
Hypopepsie 94.
Hypoxanthin 291.

J.

Jecorin 299.
Immunserum 126.
Indirecte Oxydasen 49. 288.
Indiglucin 225.
Indigofera tinctoria 225.
Indophenolreaction 287
Inulinase 197.
Invertase 10. 202 ff. 265.
Inzengaea 230.
Isatis alpina 215. 225.
Isobutylenglycol 254.
Isomaltose 170. 180.
Isopepsin 94. 97.

K.

Kältetod d. F. 59.
Katalyse (Theorie) 51.
Keratin 109.
Kojihefe 177.

L.

Labferment 142 ff.
Labzymogen 145.
Laccase 292. 300.
Lactase 210.
Laurocerasus 214.
Leberdiastase 186.
Leitfähigkeit d. F. 53.
Leptomin 303.
Leucin 118.
Leucoïd 112.
Leuconostoc 206.
Leukodextrin 168.

Linamarin 215.
Lipase 227.
lösliche Stärke 167.
Luciferase 302.
Lysin 120.
Lysursäure 121.

M.

Magdalaroth 115.
Maltodextrin 168.
Maltase 199.
— (Wijsman) 156. 172.
Maltose 169. 180.
Malus communis 215.
Mandelnitrilglucosid 213.
Manihot 215.
Mannogalactan 197.
Medicago 198.
Melibiase 209.
Melicitose [illegible]09.
Melitriose 2[illegible].
Merulius lacrymans 194.
Metacaseïn 115. 116.
Methylglucosid 62. 212.
Micrococcus oblongus 309.
Milchsäuregährung 236 ff.
Molecul. physik. Th. d. F. 7.
Monilia candida 10. 72. 206.
Monobutyrin 228.
Monotropa 215.
Mosaikkrankheit 31.
Mucin 109.
Mucor 177. 203. 206. 246. 269. 276.
Mycoderma aceti 306.
Myosin 106.
Myrosin 221 ff.

N.

Nepenthes 138.
Nephrozymase 190.
Nucleinsäure 132.
Nucleoproteïde 291.

O.

Oberhefe 257.
Oenoxydase 302.
Ononin 285.
Orcinreaction 29.
Organisirte F. 6.
Ornithin 121.
Ostrea 291.
Oxalsäuregährung 308.
Oxygluconsäure 309.
Oxydasen 285 ff.
Oxyhaemoglobin 110.
Ozon 288.

P.

Pancreatin 111.
Pancreasdiastase 184.
— presssaft 299.
Papaïn 134 ff.
Papier de la Rue 98.
Paracaseïn 146.
Parachymosin 143. 150.
Paraglobulin 117.
Parapepton 105.
Pectase 152.
Pectinase 198.
Penicillium 139. 195. 215. 230.
Pepsin 90 ff.
Pepsinogen 94.
Peptone 104 ff.
Peptotoxin 104.
Peziza 195.
Pfeiffersches Phänomen 126.
Phenylendiamin 287.
Phloridzin 219.
— diabetes 296.
Phyllirin 219. 226.
Phytalbumose 135.
Piceïn 219.
Pinguicula 139. 151.
Plasmatolyse 131.
Pleurotus 195.
Pneumobacillus 24.
Polygala 215.
Polyporus 195.
Populin 219.
Porphyrodextrin 189.
Propylalkohol 307.
Protalbumose 105.
Protamine 117.
Proteolyt. Pflanz. F. 132.
Proteïnochromogen 122.
Proteus 233.

Protoplasmagifte 41.
— splitter 30.
Pseudofructose 255.
— nucleïn 110.
Ptyalin 179.
Ptyalose 180.
Putrescin 25.
Pylorusdrüsen 92.
Pyocyanase 141.
Pyocyaneus 231.
Pyrétogenin 67.

Q.

Quercitrin 219.

R.

Raffinose 204.
Rennet 142.
Reseda 223.
Residualdiastase 163.
Rhamnase 225.
Rhus vernicifera 300.
Ribes aureum 215.
Ricinus communis 139. 151. 230.
Ruberythrinsäure 226.
Rubia tinctoria 226.

S.

Sacharomyces apiculatus 72. 200. 204. 267.
— cerevisiae 267.
— ellipsoideus 267.
— exiguus 268.
— fragrans 268.
— Hansenii 308.
— lactis 268.
— Ludwigii 268.
— Marxianus 72. 200. 204. 268.
— membranaefaciens 268.
— mycoderma 268. 307.
— octosporus 72. 200. 268.
— Pastorianus 268.
— tyrocola 268.
Sacharificir. F. 154.
Saligenin 219.
Salicin 219.
Salicylase 287 ff.
Sarcina rosea 141.
Sarracenia 138.
Schizosacharomyces 268.
Schleichera 215.
Secretionsdiastase 175.
Seitenkettentheorie 127.
Selbstgährg. d. Hefe 283.
Selbstverdauung des Magens 90.
— der Organe 123.
Seminase 156. 197.
Sinalbin 223.
Sinapis 223.
Solanin 219.
Soorpilz 183.
Sorbose 256. 309.
Speicheldiastase 179 ff.
Spongin 109.
Steapsin 227.
Sucrase 156. 202.
Synaptase 214.
Synarthrin 256.
Syringin 219.
Syzygium Jambolanum 190.

T.

Tagatose 256.
Takadiastase 177.
Tenebrio molitor 95. 229. 291.
tonkinesische Hefe 178.
Torulaceen 232.
Toxine 63.
Trametes 177. 195.
Translocationsdiastase 175.
Trehalase 208.
Trigonella 198.
Trypsin 111 ff.
Trypsinogen 116.
Tryptophan 122.
Tuberkelbacillus 141.
Turanose 209.
Typhusbacillus 141. 231.
Tyrosin 119.
Tyrosinase 292. 301.

U.

Unterhefe 257.
Unvollständigk. d. F.-React. 54.
Urase 233.

Urobacterien 233.
Utricularia 139.

V.

Vanillin 219.
Vibrionen 140. 152.
Vitellin — osen 106.

W.

Withania coagulans 151.

X.

Xanthin 291.
Xanthorhamnin 225.

Z.

Zymase (Buchner) 246 ff.
Zymo-frénateurs 38.
— plastische Agent. 38.
Zymogene 74.
Zymolyse 38.
Zymophore Gruppe 64.

Namen-Register.

A.

Abeles 187. 247.
Abelous 286 ff.
Aberson 279.
Achard 229. 298.
Adametz 239. 268.
Adrian 246.
Åkermann 93.
Amthor 268.
Albert 246.
Albertoni 103. 114. 116.
Albrecht 136.
Alexander 107. 110.
Angerer 67.
Arrhenius 54.
d'Arsonval 39.
Arthus 18. 26. 32. 38. 41. 147. 296.
Ascoli 295.
Astaschewski 183.
Atkinson 177.
Auerbach 80.

B.

Babcock 123.
Baeyer 252.
Baginski 143. 144. 151.
Baker 170.
Balke 118.
Balling 4.
Baltus 67. 84.
Bang 144. 150.
Baranetzki 158 ff. 174. 187.
Bardet 36.
Barfoed 170. 256.
Barral 69.
Barth 27. 60. 159. 203.
Bary, de 11. 152. 195. 245.
Basch 82. 95.
Basilius Valentinus 3.
Bastianelli 186.
Bau 209.
Baudrimont 202.
Bauer 209.
Baum 42.
Baumann 107. 285.
Beam 162.
Beaumont 91.
Béchamps 67. 84. 94. 189. 205.
Becher 3.
Beckolt 135.
Beitler 122.
Belfanti 96.
Bellamy 259.
Bendersky 96. 114.
Benjamin 148.
Berg 226.
Bergmann 67.
Bernard 80. 111. 122. 207. 220. 221. 295.
Bert 44. 257.
Berthelot 7. 202. 228. 234. 258/9. 265.
Bertels 100.
Bertrand 152. 300. 302. 309.
Berzelius 4. 142. 179.
Beyerinck 31. 155. 168. 172. 193. 210. 221. 268.
Bial 189.
Biarnès 289 ff.
Bidder 92 ff. 183.
Biedermann 73. 82. 95. 115. 196. 227 ff. 291/92.
Biernacki 57. 97. 114. 180.
Biffen 230.
Biffi 123.
Bing 299.
Biondi 124.

Bitter 140. 178.
Bizio 159.
Blank 117.
Blondeau 237.
Blumenthal 292. 299.
Boas 143. 145. 149.
Böhm 181. 259. 275.
Bömer 107.
Boerhave 231.
Bokay 123.
Boltzmann 16.
Bondonneau 167.
Bordet 126. 130.
Borelli 90.
Borzi 230.
Bouchardat 41. 95. 184. 220. 261.
Bouchut 137.
Bouffard 302.
Bougarel 216.
Boullay 202. 249.
Bourquelot 82. 139. 177. 188. 198—210. 215—223. 257. 287 ff. 301 ff.
Boussingault 230.
Boutron 214. 221/2. 236.
Boutroux 237. 309.
Braconnot 236.
Brasse 182.
Bréaudat 215. 225.
Bredig 46.
Brefeld 253. 259. 269. 278.
Breusing 190.
Brieger 63. 104.
Briot 149.
Brissemoret 302.
Brizi 230.
Brodie 116.
Brodmeier 233.
Broek, van den 264. 300.
Brown, A. 257. 274, 279.
Brown, H., 74. 78 ff. 159 ff. 175. 186. 192. 207 ff.
Browne 134.
Brücke 60. 91 ff. 98 ff. 166.
Brunn 92.
Brunton 136. 140.
Buchner (sen.) 42. 101.
Buchner, E. 13. 101. 246 ff. 257.
Buchner, H. 125. 129. 279 ff.
Büsgen 177. 270.
Bull 218.
Bunsen 18.
Buscaglioni 134.
Bussy 222.

C.

Cagniard-Latour 261.
Cahours 259.
Calmette 178. 270.
Cambier 233.
Campbell 158.
Camus 44. 101. 145. 228. 230.
Canby 138/9.
Carnot 291.
Cattani 63.
Cavazzani 188. 190.
Cazeneuve 232. 302.
Chabrié 81.
Chapoteaut 94.
Charrin 103.
Chassevant 235. 295.
Chittenden 43. 57. 101. 105 ff. 113. 136 ff. 151. 162 ff. 181.
Chodjujew 37.
Claudon 254.
Clausnitzer 252.
Clerc 229.
Chlodounski 185.
Cochin 257.
Coggi 44.
Cohn, F. 20. 63. 138.
Cohn 119. 241. 307.
Cohnheim 60/1. 159. 162. 179. 184. 190.
Colenbrander 297.
Colin 4.
Conn 152.
Connstein 229. 292.
Contejean 93.
Cornu 301.
Corvisart 111.
Cotta 96.
Courant 148.
Cripps 161.
Croner 100.
Cuisinier 199.
Cummins 113.
Curtin 270.
Czapek 195.

D.

Daccomo 134.
Dahl 83.
Danilewski 111. 184.
Darwin 138. 151.
Dastre 36. 38. 113 ff. 211.
Davidson 100. 102.
Delachanel 309.
Delbrück 271.
Denigès 302.
Detmer 42. 161 ff. 181.
Devaux 259.
Dickinson 26.
Dienert 209/10. 255. 268.
Dieterich 100. 102.
Dobroslawin 186.
Döbereiner 259. 305.
Döpping 263.
Donath 160. 203.
Donders 93.
Dragendorff 197.
Drechsel 120. 299.
Dubois 139. 301.
Du Bois-Reymond 241.
Dubourg 177. 202. 257. 268/9. 275.
Dubrunfaut 158. 160. 170. 202. 257/8.
Dubs 101.
Duclaux 152. 177. 196. 251 ff. 268.
Dufresne 180.
Düll 170.
Dumas 5. 40. 202. 249. 257. 263.
Dumont 259.
Dunlop 225.
Dupouy 291.
Duquesnel 158.
Dusch, v. 263.

E.

Eberle 91. 227.
Ebstein 92. 181.
Edinger 92.
Edkins 94. 116.
Edmunds 146. 149.
Effront 162/3. 198. 253. 259.
Ehrlich 63/4. 127/8. 286.
Eichhorst 83. 190.
Ekenstein 198.
Ellenberger 100. 183. 188.
Ellinger 25. 121.
Ely 43. 57. 181.
Emmerich 129. 141.
Emmerling 255. 309.
Erlenmeyer 82. 119. 174. 186. 208.
Escherich 115.
Etzinger 109.
Eugling 148/9.
Eves 188.
Ewald 113.

F.

Fabroni 243.
Falk 205.
Fano 108.
Fauré 221.
Fermi 37 ff. 44. 68. 80. 82. 90. 92. 101. 103. 114 ff. 123. 134. 140. 177 ff. 207 ff. 215 ff.
Fernbach 81. 206.
Fick 18. 26. 92 ff.
Fiechter 10. 42. 245. 276.
Filehne 83. 115.
Finkler 97.
Fischer, Emil 41 ff. 61. 64. 72. 119 ff. 170. 189. 199 ff. 208 ff. 219. 223.
Fischer, H. 231.
Fitz 152. 203. 252. 258. 269. 272.
Fleury 229.
Floresco 114. 116. 185.
Fokker 152.
Foth 276.
Fourcroy 231. 243.
Fränkel 93. 118.
Framm 298. 303.
Frankhause 176.
Frankland 238.
Fraser 101. 104.
Frémy 152. 236.
Frerichs 92.
Freudenreich 150.
Friedenthal 29.
Friedinger 93.
Fubini 216.

G.

Gaglio 296.
Gamaleïa 103.

Gamgee 90. 95. 109. 184.
Gans 163. 185. 191.
Gardiner 74.
Gaube 82.
Gautier 9. 31. 94.
Gay-Lussac 4. 236. 249. 261.
Gayon 115. 177. 206. 257. 268/9. 275.
Géduld 199.
Gehrig 83. 96. 190.
Gérard 215 ff. 230. 234. 286.
Geret 96. 141.
Gerlach, v. 109.
Gerock 221.
Gerson 91.
Giard 291.
Giltay 279.
Girard 175.
Giunti 307.
Glendinning 58. 163.
Gley 44. 101. 149. 202.
Glutz 52.
Gmelin 91. 259.
Gmelin, B. 119. 122.
Goebel 139.
Goldschmidt 179. 185.
Gonnermann 174.
Goodwin 106. 152.
Gorini 152.
Gorup-Besanez, v. 83. 133. 138. 174.
Gottlieb 294.
Gouirand 302.
Gow 112.
Greg 271.
Gregor, Mac. 238.
Green 11. 39. 74. 133 ff. 151. 165. 192. 197. 201. 207. 230.
Grimbert 24.
Griswold 181.
Grober 190.
Grote 137.
Grünert 207.
Grünhagen 99.
Grüss 46. 74. 158. 160. 176. 194. 303.
Grützner 73. 81. 92. 95 ff. 143. 145. 183 ff. 228.
Gruber 199.
Gürber 102.
Guérin-Varry 170.
Guiard 232.
Guignard 74. 216. 218. 223.
Gulewitsch 107. 112. 121.
Gumilewski 186.
Gunning 203.

H.

Haberlandt 74. 175.
Habermann 120.
Hahn 44. 96. 141. 285. 297 ff.
Hairs 215.
Hayer 95.
Hales 3.
Halliburton 116.
Hamburger 107. 180 ff. 199. 201.
Hammarstén 58. 98. 112. 142 ff. 182.
Hankel 231.
Hanriot 227 ff.
Hansen 9. 79. 134 ff. 174. 204. 267. 271. 278. 306.
Harlay 136.
Harley 296.
Harris 112. 286.
Harst, van d. 134.
Hartig 177. 194.
Hartley 203.
Hartwell 106.
Hasebroek 117.
Hedin 120/1.
Hehner 100.
Heidenhain 73. 92 ff. 112 ff.
Heine 186.
Heinricher 224.
Heintz 142.
Helmholtz 263.
Helmont, van 3. 90. 231.
Hemala 122.
Henneberg 306.
Henninger 108.
Henriques 299.
Hérissey 198. 201. 209. 214.
Heritsch 228.
Herrmann 117.
Heron 159. 164. 186. 204.
Herter 285.
Herth 108.
Herzen 98. 116.
Hiepe 257.
Hildebrandt 63. 67. 69. 84. 90. 190.
Hilger 237. 253.

Hill 42. 55. 201.
Hirsch 136.
Hirschfeld 159. 241.
Hirschler 117. 136.
Hjort 140.
Hlasiwetz 120.
Hoffmann 96. 102. 115. 264.
Hofmann, A. W. 223.
Hofmeister 100. 183. 188. 295.
Holovtschiner 143. 190.
Homburger 115.
Hooker 134. 138.
Hoppe-Seyler 7. 48. 50. 109. 115. 186. 234. 265. 286.
Horbaczewski 109.
Hoyer 306.
Hubatka 223.
Huber 41. 43.
Hüfner 18. 27. 39. 51. 60. 119. 140. 159.
Hueppe 152. 160. 237. 239.
Hughes 134.
Hugounencq 291.

I.

Irvine 157.

J.

Jacobsen 299.
Jacobson 189.
Jacobson 42. 45. 220. 289.
Jacoby 290. 295. 298.
Jacquemin 267.
Jacquet 287. 289.
de Jager 26. 36. 148.
Jaksch, v. 83. 189. 233.
Jeanne 302.
Jodlbauer 256.
Jörgensen 269.
Johannesson 143. 145.
Johansen 216.
Johnson 143. 149.
Jorissen 215.
Joubert 234.
Jousset de Bellesme 95.
Juhler 269.

K.

Kalanthar 203. 209.
Kalischer 152.
Kassowitz 12. 23. 77.
Kawalier 219.
Kayser 240. 268.
Kellner 177. 200.
Kionka 68. 90.
Kirchhoff 158.
Kjeldahl 162. 175. 204.
Klebs 292.
Klemensiewicz 93.
Klemperer 145.
Klöcker 269.
Klug 96ff. 109. 229.
Klug jun. 100.
Knauthe 149. 196.
Knieriem 120. 308.
Koch 256.
Köbner 207.
Kölliker 73. 93.
König 158.
Körner 222.
Köster 146.
Kohnstamm 194.
Kolbe 41.
Konowaloff 96.
Kopp 3.
Korowin 183. 185.
Kosai 269.
Kossel 117. 120ff. 132.
Kossmann 176. 206/7.
Krabbe 161. 176.
Krassilnikoff 92.
Kratschmer 159. 187.
Krauch 134. 162. 226.
Kraus 297.
Kreussler 120.
Kröber 201.
Krüger 207.
Krukenberg 82. 95. 115. 140. 183. 186.
Kübel 40. 161. 181/2.
Kühne 6. 21. 29. 57. 84. 98. 105. 107. 111ff. 119. 122. 242.
Külz 180. 187. 201.
Kützing 261.
Kuprianow 239.
Kurajeff 122.
Kussmaul 69. 191.
Kutscher 57. 108. 117. 120/1.

L.

Laborde 210. 302.
Ladureau 233.
Lafar 307.
Lange 222.
Langendorff 83.
Langley 73. 84. 94. 98. 113 ff. 145. 162. 181. 183.
Lannois 186.
Lappe 211.
Latschenberger 26.
Laurent 272.
Lavoisier 4. 249.
Lawrow 109.
Lea 26. 37. 151. 182. 203/4. 234.
Leber 132.
Lechartier 259.
Leeuwenhoek 261.
Leffmann 162.
Lehmann 92. 185.
Leichmann 239.
Lemery 3.
Leo 115. 178.
Leone 234.
Lépine 69. 186 ff. 295 ff.
Lépinois 292.
Leube 185. 232 ff.
Leuchs 179.
Lewin 41.
Liborius 140.
Liebig 5. 27. 52. 142. 203. 215. 231. 262. 264. 305.
Likiernik 119.
Lindberger 113.
Lindet 255. 302.
Lindner 309.
Ling 170.
Linné 151.
Linossier 269. 276. 292.
Lintner 158 ff. 170. 201.
Lipp 119.
Lister 237.
Liversidge 185.
Livon 232.
Lobry de Bruyn 255.
Locke 149.
Loeb 293.
Lörcher 144 ff. 149.
Löw 129. 141.
Loew 9. 27/8. 30. 41. 51. 112. 159. 302.
Loewi 295.
Lookeren-Campagne, v. 225.
Ludwig 222.
Lüdersdorff 245.
Lumia 230.
Lundberg 147.
Lutz 214.

M.

Macfadyen 28. 140.
Mac Gillawry 196.
Mac Gregor 238.
Mach 253. 274.
Maercker 170.
Malfitano 139.
Maly 92. 100.
Manasse 299.
Mann 100/1. 276.
Markwort 60.
Marloth 151.
Martin 135. 151.
Martinaud 302.
Marx 132.
Maumené 254.
Mayer, A. 2. 9. 17. 30. 42. 60. 68. 80. 97. 100. 144. 149. 204. 241. 251 ff. 265 ff. 308.
Mays 114.
Mazé 259.
Medwedew 9. 290.
Mees 98.
Meissner 4. 104. 108. 111. 232. 237.
Mendel 106.
Mendelson 67.
Mering, v. 170. 180. 184 ff. 207 ff.
Mett 99.
Mette 99.
Metschnikoff 126.
Meyen 267.
Meyer, A. 176.
Mialhe 179.
Michaelis 292.
Miescher 110.
Millar 167.
Minkowski 297.
Miquel 332 ff.
Mitchell 161.
Mitscherlich 192.

Mittermeier 170.
Miura 207.
Miyoshi 195.
Moncorvo 135.
Montisano 207. 217.
Moraczewski, v. 30. 109 ff.
Morgenroth 66. 146. 150.
Mori 177. 200.
Morin 254.
Moritz 58. 163. 196. 278.
Morochowetz 107.
Morren 139.
Morris 74. 79. 192.
Moxter 132.
Mrotschkowsky 41.
Müller, Joh. 91.
Müller, Joh. jun. 190.
Müller 41. 180. 182. 232.
Müller-Thurgau 44. 162 ff. 205. 208. 268. 270.
Müller v. Berneck 46.
Müntz 41. 229. 259.
Mulder 174. 187. 229.
Munk 54. 96. 137.
Murisier 97.
Musculus 160. 167 ff. 180. 184. 199 ff. 233.
Mya 96.

N.

Naegeli 17. 52. 167. 196. 203. 211. 279. 282.
Nagaoka 177. 200.
Napias 204.
Nasse 41 ff. 53. 61. 81. 166. 180 ff. 208. 241. 298. 303.
Naunyn 285.
Nékám 100.
Nencki 28. 115. 119. 122. 238.
Neubauer 278.
Neumeister 106. 222. 134. 248.
Newcombe 193.
Niebel 208.
Nussbaum 92. 94.

O.

Ogata 229.
Omelianski 195.
Oppenheimer 64.
Ortloff 218.
Osborne 158. 203.
Osswald 137.
Otto 117.

P.

Padéri 298.
Pagès 147.
Pál 296.
Pampersi 140.
Partsch 93.
Paschutin 112. 182 ff.
Pasteur 6. 61. 232 ff. 236 ff. 242. 253 ff. 261. 278. 305.
Pautz 211.
Paviot 291.
Pavy 39. 41. 187.
Payen 83. 157. 160. 174.
Pedersen 279.
Pekelharing 28. 29. 92. 97.
Pelouze 200. 236.
Perdrix 178.
Péré 239.
Pernossi 37. 101. 114. 208.
Persoz 83. 157. 174.
Peters 142 ff.
Pfeffer 20. 138. 215/6. 303.
Pfeiffer 126. 132.
Pfleiderer 149.
Pflüger 23. 286.
Phisalix 272.
Pick 105 ff. 178.
Pierallini 299.
Piéri 291.
Piria 133. 219.
Plateau 95.
Pless 223.
Plósz 189.
Plugge 41.
Podolinski 113.
Pódwissotzki 94.
Poehl 95 ff. 134. 139.
Pohl 285 ff. 300.
Poleck 215.
Pollitzer 108.
Popoff 234.
Portele 253. 274.
Portes 216.
Portier 211. 291.
Pottevin 165. 169. 173. 204.

Pregl 95. 186. 196. 211.
Prior 277.
Procter 221.
Proust 231.
Prout 91. 231.
Pugliese 41. 44. 180. 182.
Puriewitsch 217.

Q.

Quévenne 202. 257.

R.

Raciborski 303 ff.
Radziejewski 119 f
Rapp 279 ff.
Raschford 113.
Rau 254.
Raudnitz 148.
Réaumur 90.
Reess 138. 267. 277.
Reinitzer 193 ff.
Reiss 192.
Renzi 208.
Reychler 159. 176.
Rey-Pailhade 246. 286. 301.
Richardson 218.
Richet 22. 95. 162. 181. 188. 239 ff. 294.
Ringer 147 ff.
Ritthausen 120.
Roberts 112 ff. 161. 184.
Robertson 208.
Robiquet 27. 214 ff.
Röden 44. 149.
Röhmann 119. 185 ff. 201. 207. 211. 260. 289.
Roeser 254.
Rollet 73.
Rollo 259.
Rosenberg 111.
Rosenheim 102. 137.
Rosetti 152.
Rossbach 136 ff.
Roth 94.
Roussy 62.
Roux 63.
Roy 136.
Ruff 302.
Russell 123.
Rywosch 297.

S.

Sacharoff 18.
Sachs 192. 229.
Sahli 96. 114.
Salkowski 39. 41. 102. 104. 110. 114. 120. 123. 141. 183. 188. 203. 290. 297.
Salomon 124.
Salvioli 68.
Sandras 184.
Sanfelice 270.
Sanguinetti 178.
Sansoni 296.
Saussure 158.
Schäffer 149. 181. 275.
Schaer 286/7. 300.
Schardinger 238.
Scheibler 170.
Scheurer-Kestner 134.
Schierbeck 40. 101. 113. 181.
Schiff 99. 109. 183.
Schifferer 168. 171.
Schiönning 269.
Schlesinger 41. 179.
Schmiedeberg 287.
Schmidt, Alex. 92. 97. 99. 100. 142. 286.
Schmidt, B. 262.
Schmidt, C. 102.
Schmidt 183. 218. 220. 222.
Schmidt-Mülheim 108.
Schmitt 52.
Schmulewitsch 196.
Schnappauf 83 ff.
Schneegans 221.
Schönbein 45. 286. 300.
Schoumow-Simanowski 92.
Schröder 263.
Schütz 99.
Schützenberger 3. 40. 104. 226. 229.
Schumacher 268.
Schultzen 285.
Schultz-Schultzenstein 42. 101.
Schulz 276.
Schulze, E. 119. 121. 133. 170. 181.
Schumburg 143.
Schunck 226. 260.
Schwann 91. 179. 261.

Schwarz 110. 295.
Schwarzer 60. 159f.
Schwiening 124. 187. 289.
Sebelien 110.
Seegen 159. 180. 187. 296.
Selmi 142.
Senus, van 196.
Sestini 234.
Sewall 93.
Shearman 231.
Shore 201.
Sieber 238.
Siegfried 118.
Sigmund 230.
Simon 223.
Sittmann 136.
Smith 222.
Söldner 147.
Solera 182.
Southgate 113.
Soxhlet 142.
Spallanzani 91.
Spatzier 221. 223.
Spiro 106. 122.
Spitzer 287. 291ff.
Stadelmann 115. 117. 122.
Staedeler 216.
Stahl 3.
Steiger 121.
Stekhoven 210.
Stewart 181.
Stohmann 12. 18.
Stone 177.
Struve 263. 300.
Stutzer 100f.
Šulc 185.
Sullivan, O' 58. 160. 170. 203ff.
Sundberg 97.
Swiecicki, v. 93.
Sykes 161.
Sylvius de la Boë 3.
Szumowsky 65.
Szydlawski 143. 148.

T.

Tait 138.
Takamine 177.
Tamman 43. 54ff. 204. 220.
Tangl 74. 175.
Tanret 225. 256.
Tappeiner 41. 197.
Tasulli 96. 114.
Tatarinoff 109.
Tate 240.
Tebb 169. 187. 201.
Thénard 243.
Thibierge 221.
Thierfelder 110.
Thiry 185.
Thomé 216.
Thomson 218. 221.
Thylmann 253.
Tichutkin 139.
Tiedemann 91. 122.
Tiegel 189.
Tieghem, van 80. 207. 232.
Timpe 240.
Tizzoni 63.
Tolomei 300. 307.
Tommasi 134.
Tompson 58. 203. 205.
Traube, M. 7. 259. 265. 278ff. 291.
Treyer 41.
Trumpp 130.
Tussac 137.

U.

Udránszky, v. 253.
Uffelmann 109.
Umber 107. 299.

V.

Vauquelin 231.
Venturini 96.
Vignal 152. 196.
Vincet 309.
Vines 138ff.
Virchow 118.
Vogel 187. 201. 211.
Voit 255. 268.
Vollrath 223.

W.

Walther 26.
Ward 74. 195. 225.
Wasmann 91.
Wasserzug 206.